

870127

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

2

INCORPORADA A LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



**ESTUDIO SOBRE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA DE
DERIVADOS DE ETHERES DE CORONA CONTRA
HONGOS QUE PUDREN LA MADERA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

VERONICA GARCIA MALO

ASESOR:

Q. F. B. BEATRIZ GARCIA VAZQUEZ

GUADALAJARA, JAL.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

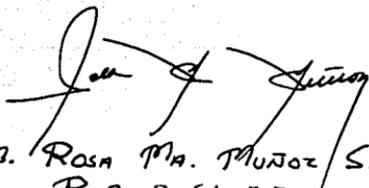


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

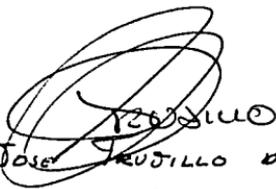
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Q.F.Q. ROSA M. MUÑOZ SAUCEDO
PRESIDENTE
COMISIÓN REVISORA DE TESIS.



I.O. JUAN JOSÉ TRUJILLO DEL RÍO
DIRECTOR

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS.

ESTA TESIS LA DEDICO CON TODO MI AMOR:

A MI MAMA, QUE CON SU EJEMPLO,
SU COMPRESION Y SU CARINO,
HA SABIDO GUIARME POR EL CAMINO
DE LA VIDA, Y AUNQUE ES IMPOSIBLE
EXPRESAR EN TAN BREVES RENGLONES LO
QUE ELLA SIGNIFICA PARA MI,
QUITERO DECIRLE ¡ GRACIAS MAMA !

A MI PAPA, QUE AUNQUE YA NO ESTA PRESENTE,
SU RECUERDO SIEMPRE ME ACOMPAÑARA, Y
EN DONDE QUIERA QUE SE ENCUENTRE,
COMPARTIRA TODOS LOS MOMENTOS DE MI VIDA.
MI CARINO POR EL HARA QUE ME SUPERE CADA
DIA MAS, PARA HACERLO SENTIR EL PADRE MAS
ORGULLOSO DEL MUNDO.

A MIS ABUELOS, ALFONSO, LUZ MARIA,
JESUS Y REFUGIO POR HABER COMPARTIDO
CONMIGO SUS EXPERIENCIAS, POR SUS
CONSEJOS, POR SU TERNURA Y POR SU
INFLUENCIA QUE ME HACE SENTIR UNA
LUZ EN TODO LO QUE ME RODEA.

A MIS TIOS Y PRIMOS
CON TODO MI CARIÑO Y
AGRADECIMIENTO POR SU AYUDA,
COMPRESION Y ALIENTO
EN LOS MOMENTOS MAS
DIFICILES DE MI VIDA.

A MIS MAESTROS, AMIGOS Y
COMPAÑEROS, POR HABERME HECHO
SENTIR SU AMISTAD DESINTERESADA.

A TODAS LAS PERSONAS
QUE DE UNA FORMA U OTRA
COLABORARON EN LA ELABORACION
DE ESTE TRABAJO.

Y A TI, QUE SIEMPRE
PERMANECERAS EN MI
CORAZON.

I N D I C E .

	PAGS.
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
2.1. La madera como material de construcción	3
2.2 Composición química de la madera	3
2.2.1. Celulosa	4
2.2.2. Hemicelulosas	4
2.2.3. Lignina	5
2.3. Agentes de deterioro de la madera	5
2.4 Concepto y Tipos de Pudrición.	7
2.5 Cambios en la composición química de la madera	9
2.6. Preservación de la madera	11
2.6.1. Tipos de Preservadores	11
2.6.2. Métodos de Tratamiento	14
2.7. Pruebas de Toxicidad	16
2.8. Poliéteres Macroclíclicos	18
2.8.1. Nomenclatura	18
2.8.2. Propiedades	19
2.8.3. Identificación.	19
3. OBJETIVOS Y FINALIDADES	21
4. ANTECEDENTES	22
4.1. Síntesis de Poliéteres	22
4.2. Actividad Bioquímica de los Poliéteres	23
4.3. Trabajos sobre hongos xilófagos y preservación de la madera en México.	24
4.4. Toxicidad de preservadores para madera	28
5. MATERIALES Y METODOS.	31
5.1. Cepas utilizadas	31
5.1.1. <i>Coriolus versicolor</i>	31

	PAGS.
5.1.2. <i>Picnoporus coccineus</i>	32
5.1.3. <i>Tyromyces palustris</i>	32
5.2. Reactivos utilizados	33
5.3. Medio de Cultivo	44
5.4. Inóculo Inicial	44
5.5. Ensayo Cualitativo	45
5.6. Ensayo Semicuantitativo	46
5.7. Ensayo Cuantitativo	48
6. RESULTADOS	49
7. DISCUSION Y CONCLUSIONES	102
8. BIBLIOGRAFIA	104

INDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRAFICAS

TABLAS.	PAGS.
1. Reactivos Utilizados en este trabajo	35
2. Prueba Cualitativa de <i>Coriolus versicolor</i>	50
3. Prueba Semicuantitativa de <i>Coriolus versicolor</i>	51
4. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB15C5 contra <i>Coriolus versicolor</i>	53
5. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB18C6 contra <i>Coriolus versicolor</i>	56
6. Determinación de la DE ₅₀ de diCH18C6 contra <i>Coriolus versicolor</i>	59
7. Determinación de la DE ₅₀ de ditBudiB18C6 contra <i>Coriolus versicolor</i>	62
8. Determinación de la DE ₅₀ de Kriptofix 22DD contra <i>Coriolus versicolor</i>	65
9. Prueba Semicuantitativa de <i>Tyromyces palustris</i>	68
10. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB15C5 contra <i>Tyromyces palustris</i>	70
11. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB18C6 contra <i>Tyromyces palustris</i>	73
12. Determinación de la DE ₅₀ de diCH18C6 contra <i>Tyromyces palustris</i>	76
13. Determinación de la DE ₅₀ de ditBudiB18C6 contra <i>Tyromyces palustris</i>	79
14. Determinación de la DE ₅₀ de Kriptofix 22DD contra <i>Tyromyces palustris</i>	82
15. Prueba Cualitativa de <i>Picnoporus coccineus</i>	85
16. Prueba Semicuantitativa de <i>Picnoporus coccineus</i>	86
17. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB15C5 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	88
18. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB18C6 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	91
19. Determinación de la DE ₅₀ de diCH18C6 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	94
20. Determinación de la DE ₅₀ de ditBudiB18C6 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	97
21. Resultados Finales.	101

FIGURAS:

	PAGS.
1. Formulas Estructurales de los Derivados de los Eteres de Corona.	34
2. Aparato de Reflejo.	37
3. Cromatografía en Columna	39
4. Preparación para los Ensayos Semicuantitativos y Cuantitativos	47

GRAFICAS:

1. Prueba Semicuantitativa de <i>Coriolus versicolor</i>	52
2. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Coriolus versicolor</i> con tBuB15C5	54
3. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB15C5 contra <i>Coriolus versicolor</i>	55
4. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Coriolus versicolor</i> con tBuB18C6	57
5. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB18C6 contra <i>Coriolus versicolor</i>	58
6. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Coriolus versicolor</i> con diCH18C6	60
7. Determinación de la DE ₅₀ de diCH18C6 contra <i>Coriolus versicolor</i>	61
8. Longitud de Micelio contra tiempo <i>Coriolus versicolor</i> con ditBudiB18C6	63
9. Determinación de la DE ₅₀ de ditBudiB18C6 contra <i>Coriolus versicolor</i>	64
10. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Coriolus versicolor</i> con Kriptofix 22DD.	66
11. Determinación de la DE ₅₀ de Kriptofix 22DD contra <i>C. versicolor</i>	67
12. Prueba semicuantitativa de <i>Tyromyces palustris</i>	69
13. Longitud de Micelio contra tiempo <i>Tyromyces palustris</i> con tBuB15C5	71
14. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB15C5 contra <i>Tyromyces palustris</i>	72
15. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Tyromyces palustris</i> con tBuB18C6	74
16. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB18C6 contra <i>Tyromyces palustris</i>	75
17. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Tyromyces palustris</i> con diCH18C6	77

18. Determinación de la DE ₅₀ de diCH18C6 contra <i>Tyromyces palustris</i>	78
19. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Tyromyces palustris</i> con ditBudiB18C6	80
20. Determinación de la DE ₅₀ de ditBudiB18C6 contra <i>Tyromyces palustris</i>	81
21. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Tyromyces palustris</i> con Kriptofix 22DD.	83
22. Determinación de la DE ₅₀ de Kriptofix 22DD contra <i>Tyromyces palustris</i>	84
23. Prueba Semicuantitativa de <i>Picnoporus coccineus</i>	87
24. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Picnoporus coccineus</i> con tBuB15C5	89
25. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB15C5 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	90
26. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Picnoporus coccineus</i> con tBuB18C6	92
27. Determinación de la DE ₅₀ de tBuB18C6 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	93
28. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Picnoporus coccineus</i> con diCH18C6	95
29. Determinación de la DE ₅₀ de diCH18C6 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	96
30. Longitud de Micelio contra Tiempo <i>Picnoporus coccineus</i> con ditBudiB18C6	98
31. Determinación de la DE ₅₀ de ditBudiB18C6 contra <i>Picnoporus coccineus</i>	99

1. RESUMEN

En el presente trabajo se estudio la actividad fungicida de doce poliéteres macrocíclicos, derivados de los comunmente llamados "Eteres de Corona", contra tres cepas de hongos degradadores de la madera, que fueron: *Coriolus versicolor*, *Picnoporus coccineus* y *Tyromyces palustris*.

Se realizaron tres ensayos para determinar o evaluar la toxicidad de los poliéteres utilizados; éstos fueron: Ensayo Cualitativo, Ensayo Semicuantitativo y Ensayo Cuantitativo. Para los tres ensayos, se utilizó como medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar), a diferentes concentraciones.

De acuerdo con los resultados obtenidos de los ensayos cualitativo y semicuantitativo, se realizaron los ensayos cuantitativos, de aquellos reactivos que en una concentración determinada, inhibieron más del 50%, el crecimiento del micelio, con el fin de calcular la DE_{50} (Dosis Efectiva Media) de cada reactivo ensayado cuantitativamente en cada hongo.

El ensayo cuantitativo se realizó siguiendo las bases de Schmitz *et al.* (1931), quien sugería una evaluación de la tolerancia de los hongos a partir de las mediciones de su crecimiento diametral a distintas concentraciones de preservador incorporadas en un medio de malta-agar.

Los reactivos ensayados cuantitativamente, fueron, para *Coriolus versicolor* y *Tyromyces palustris*, tBuB15C5, tBuB18C6, diCH18C6, ditBudiB18C6 y Kriptofix 22 DD; y para *Picnoporus coccineus*, los mismos anteriormente mencionados, exceptuando el Kriptofix 22 DD.

Los resultados de DE_{50} obtenidos para cada reactivo ensayado cuantitativamente, nos indican que la toxicidad de éstos es elevada, por lo que nos atrevíamos a decir que los reactivos ensayados en éste trabajo, son más tóxicos que muchos de los preservadores de madera que se utilizan actualmente, y aun-- que es necesario realizar la prueba en vivo, para pensar en la posibilidad de

desarrollar un nuevo preservador de la madera, sería interesante continuar con el estudio para ver si estos reactivos reúnen todas las características indispensables de un preservador de madera, y así tener una aplicación práctica.

2. INTRODUCCION

2.1 La madera como material de construcción.

En los países que poseen grandes recursos madereros, la madera fue siempre el principal material de construcción. Su poco precio, su existencia en formas y tamaños diversos, su gran resistencia con relación al peso, su facilidad de trabajo y acoplamiento, su escasa conductibilidad térmica, sus propiedades acústicas, etc., hacen que sea el mejor material de construcción desde los tiempos de los primeros colonizadores hasta nuestros días (HUNT & GARRATT, 1962).

La madera es un material orgánico, formado durante el crecimiento en grosor de los árboles por la subdivisión y elongación de células. Estas células son elaboradas por una capa de tejido vivo situado bajo la corteza, el cambium. La especialización de éstas células originadas por el cambium permite al tronco adquirir resistencia mecánica, transportar líquidos a los tejidos y almacenar sustancias de reserva (FINDLAY, 1967).

Debido a propiedades tales como el poseer estructuras celulares en un arreglo vertical con ultraestructura y constitución química propias bien definidas, tiene en consecuencia un alto grado de resistencia mecánica por unidad de peso y presenta comportamiento físico apropiado, además de considerable valor para muchas aplicaciones en la industria, vivienda y campo (PANSHIN & DE ZEEUW, 1970).

2.2 Composición química de la madera.

Para tratar con los cambios químicos causados por hongos que deterioran la madera, es necesario tener en mente aspectos de la composición química de ella, la estructura química de sus componentes, y la relación entre éstos polímeros estructurales.

La madera está compuesta principalmente por tres materiales poliméricos: celulosa, hemicelulosas y lignina. Otras sustancias como materiales nitrogenados, pectina, almidón, azúcares de bajo peso molecular, y minerales (Fe, Mg, Mn, etc.) también están presentes. Además, una variedad de materiales extraños (lignanós, terpenos, polifenoles, etc.) se encuentran en cantidades variables. La pectina, almidón y los carbohidratos de bajo peso molecular son especialmente importantes como fuente inicial de carbono para el establecimiento del microorganismo en la madera (KIRK, 1973).

2.2.1 Celulosa

La celulosa es el principal constituyente de la madera. Aproximadamente, ocupa un volumen que oscila entre 40 y 45% de su peso seco en la mayoría de las especies. La celulosa está localizada predominantemente en las células de la pared secundaria.

La celulosa es un homopolisacárido compuesto por unidades de β -D-glucopiranososa que están unidas por enlaces (1 \rightarrow 4)-glucosídicos. Las moléculas de celulosa son completamente lineares y tienen gran tendencia a formar enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares.

2.2.2 Hemicelulosas

Originalmente se creía que las hemicelulosas era intermediarios en la biosíntesis de la celulosa. Ahora se sabe que las hemicelulosas pertenecen a un grupo de polisacáridos heterogéneos que se forman a través de rutas biosintéticas diferentes de las de la celulosa. En contraste con la celulosa que es un homopolisacárido, las hemicelulosas son heteropolisacáridos. Al igual que la celulosa, la función de la mayoría de las hemicelulosas es de material de soporte en las células de las paredes. Las hemicelulosas son relativamente fáciles de hidrolizar por ácidos a sus componentes monoméricos consistentes de: D-glucosa, D-manosa, D-xilosa, L-arabinosa, y pequeñas cantidades de L-ramnosa - en adición a ácido D-glucurónico, ácido 4-O-metil-D-glucurónico, y ácido D-galác-

turónico.

La cantidad de hemicelulosas del peso seco de la madera es usualmente entre 20 y 30%. La composición y estructura de las hemicelulosas en "maderas - suaves" (Gimnospermas) difieren en una forma característica de aquellas en "maderas duras" (Angiospermas) (SJOSTRON, 1981).

2.2.3 Lignina

La lignina es un polímero rígido, estable, poco conocido, ocupa del 15 al 35% del peso seco de la pared celular. La unidad básica estructural de la lignina es el fenil propano con uniones de carbono a carbono o bien uniones éter- (PANSHIN & DE ZEEUW, 1970).

Muchos aspectos de la química de la lignina aún no se encuentran claros, por ejemplo, las características estructurales específicas de ligninas localizadas en varias regiones morfológicas del xilema de la madera. De cualquier manera, los elementos estructurales principales en ligninas han sido largamente clasificados como resultado de estudios detallados en las preparaciones de ligninas aisladas, tales como ligninas de madera molida, utilizando técnicas degradativas específicas basadas en oxidación, reducción, o hidrólisis bajo condiciones ácidas o alcalinas (SJOSTRON, 1981).

2.3 Agentes de deterioro de la madera.

La madera, en sus diversas formas, está sometida a distintos tipos de deterioro desde el momento en que se extrae del bosque.

Las principales causas de deterioro en la madera son: desgaste mecánico, descomposición por agentes físicos, descomposición química, ataque de insectos, deterioro por hongos y ataque por otros animales (taladradores marinos, pájaros, etc.). (FINDLAY, 1967).

No obstante la importancia de cada una de las causas de deterioro antes mencionadas, el daño causado por hongos de diferentes grupos taxonómicos, se encuentra tan diversificado, que se revisará con mayor detenimiento.

La madera suele estar invadida por ciertas formas inferiores de plantas conocidas como hongos lignícolas. A causa del medio en que se desarrollan y su naturaleza saprofitica o parásita, los hongos difieren claramente de las plantas verdes corrientes en la forma y en el modo de nutrición. A diferencia de las plantas verdes, son incapaces de sintetizar su propio alimento, y han de disponer de materia orgánica preparada para el uso. Lo encuentran en los productos almacenados en las cavidades celulares de la madera en que se desarrollan, o bien en la misma substancia que compone las paredes de la célula.

Hay muchos hongos que habitan en la madera y varían ampliamente en sus efectos. Pueden distinguirse tres grupos, según la naturaleza de su desarrollo en la madera o sobre ella y del tipo de deterioro que ocasionan. Estos grupos son: hongos xilófagos, hongos cromógenos y mohos.

El primer grupo es el más importante y abarca los hongos que son capaces de desintegrar las paredes de la célula y, por lo tanto cambiar las características físicas y químicas de la madera; tal desorganización de la materia da lugar al estado llamado pudrición. En cambio, los hongos cromógenos y los mohos suelen alimentarse de los compuestos orgánicos fácilmente digeribles, almacenados en la madera y con frecuencia ejercen escasa o nula influencia sobre las propiedades de ésta.

El alimento requerido por la nutrición del hongo xilófago es suministrado principalmente por la misma materia que constituye las paredes de la célula del hospedante, pero también pueden facilitar el alimento las sustancias almacenadas en las cavidades celulares tales como almidones, azúcares y otros. Las hifas segregan ciertas sustancias químicas llamadas fermentos o enzimas, que desintegran las paredes celulares y las convierten en compuestos nutritivos más simples, que son solubles y pueden ser fácilmente asimilados por los

hongos.

Cuando se desarrollan los hongos xilófagos, tienden a alterar algunas de las características físicas y químicas de la madera infectada como color, resistencia, densidad, defectos del secado, conductibilidad térmica y eléctrica (HUNT & GARRATT, 1962).

Durante las etapas tempranas de la infección en la madera, la presencia de alguno de los hongos causales puede no ser fácilmente detectada. Las etapas tempranas de una degradación, pueden ser confundidas con otro tipo de degradación.

El curso, velocidad y punto final de un ataque por hongos son dictaminados principalmente por las condiciones ambientales, tanto físicas como químicas (ANANTHANARAYANAN, 1979).

2.4 Concepto y tipos de pudrición.

La pudrición como ya mencionamos, consiste en una degradación enzimática de las paredes celulares de los elementos de la madera, producida por el ataque de hongos xilófagos, que por lo tanto altera las características físicas y químicas de éste material.

Dependiendo de los cambios de coloración en la madera, sistemas enzimáticos de los hongos y sitios de penetración hifal a través de la madera, se clasifican tres tipos de pudrición: suave, morena y blanca.

La pudrición suave es causada por Ascomycetes y hongos imperfectos. Este tipo de pudrición es efectuada en las regiones superficiales de la madera, con tendencia de ésta a retener su forma, mas no su consistencia ya que se ablanda, y la transición hacia la madera no alterada es abrupta. En los estadios tempranos de ataque, es muy difícil de detectar. En ésta pudrición los hongos degradan principalmente las fuentes de carbohidratos tales como las celulosas y

hemicelulosas y forman cavidades rombohédricas en la capa intermedia de la pared celular (FINDLAY, 1967).

Los hongos de la pudrición morena, descomponen a la celulosa y sus pentosas asociadas, afectando poco o nada a la lignina. Estos hongos atacan a las células de la madera por hifas solitarias pero sin alterar su estructura durante toda la pudrición que es rápida y no uniforme (WILCOX, 1973).

La pudrición morena se caracteriza por que la madera adquiere un color moreno oscuro, tiende a colapsarse y encogerse irregularmente, como consecuencia, se forman grietas a lo largo y a través del grano dando una apariencia cubicada a la madera podrida. En fases muy avanzadas, la madera se puede disgregar fácilmente en un material pulverulento. Cualquier tipo de madera no tratada, que esté en contacto con el suelo o pueda absorber humedad, está expuesta a éste ataque.

La resistencia mecánica de la madera es reducida drásticamente por este tipo de pudrición, especialmente la resistencia al impacto y a la flexión estática. Otras características de la madera que son afectadas por la pudrición morena son: disminución de peso y densidad específica, aumento de la permeabilidad y de la capacidad de absorción y disminución de la higroscopicidad (SCHEFFER, 1973).

Los hongos causantes de la pudrición blanca, son aquellos que destruyen todos los componentes de la madera (lignina y carbohidratos). Las células son atacadas por una trama de hifas causando descomposición total pero en forma lenta y uniforme.

La pudrición blanca se caracteriza porque la madera presenta un aspecto anormalmente decolorado, y carece de zonas de contracciones irregulares o colapsadas y rajaduras transversales al grano, como en la pudrición morena. En fases avanzadas, la madera tiene el aspecto de un esqueleto de fibras de color claro.

Las características mecánicas de la madera también se ven fuertemente - - afectadas, principalmente la resistencia al impacto, a la flexión estática y a la compresión. Otras características físicas también se alteran; la gravedad-específica disminuye, aumenta la permeabilidad y la capacidad de absorber líquidos, disminuye ligeramente la higroscopicidad. Las características de seca do y estabilidad dimensional son las menos afectadas (SCHEFFER, 1973).

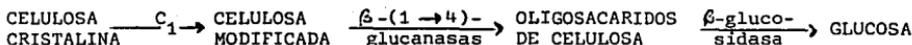
2.5 Cambios en la composición química de la madera durante la pudrición.

Descomposición de la Celulosa:

La celulosa es degradada por los microorganismos a través de una hidrólisis enzimática en los enlaces intermonoméricos en las cadenas. Por lo menos - tres diferentes tipos de enzimas, aparentemente, están involucradas: un compo nente C_1 , la β -(1 \rightarrow 4)- glucanasa, y la β -glucosidasa. Esto en conjunto ha si do denominado el "complejo celulasa" (KIRK, 1973).

Las áreas cristalinas en la celulosa no son atacadas por las enzimas hidrolíticas aisladas, de algunos organismos, a menos que actue primero el C_1 . - Lo que el C_1 hace a la celulosa cristalina no ha sido aclarado; aparentemente puede causar un rompimiento local de la altamente cristalina estructura de la celulosa para que las β -(1 \rightarrow 4)-glucanasas puedan hidrolizar las cadenas - - (HUDSON, 1980).

ACCION DEL COMPLEJO CELULASA EN LA CELULOSA.



Descomposición de las Hemicelulosas:

Las hemicelulosas, como la celulosa y el almidón, son degradados biológi-

camente a través de división en los enlaces químicos entre los residuos de azúcar. Las enzimas que catalizan la hidrólisis de xilanos y mananos han sido demostradas en un gran número de microorganismos, incluyendo los hongos que destruyen madera. En suma, las enzimas análoga a la β -glucosidasa, por ejemplo, β -xilosidasas y β -manosidasas que actúan en oligosacáridos de bajo peso molecular, son diferentes de las β -(1 \rightarrow 4)-xilanasas y β -(1 \rightarrow 4)-mananasas que han sido aisladas de hongos destructores de la madera, así como de otros microorganismos (KIRK, 1973).

Descomposición de la Lignina:

Los hongos causantes tanto de la pudrición blanca como de la pudrición suave causan decremento de la lignina, mientras que los hongos causantes de la pudrición morena solo causan cambios limitados en la estructura y únicamente un pequeño decremento.

Los hongos que causan pudrición blanca, descomponen y metabolizan fácilmente a la lignina, pero el mecanismo enzimático por el cual lo hacen es aún desconocido.

Como con los monosacáridos y oligosacáridos formados por la degradación de polisacáridos, los productos de degradación de la lignina no se acumulan durante la pudrición blanca; evidentemente, el hongo utiliza los fragmentos al mismo tiempo que son liberados.

Aunque los hongos que causan pudrición morena no pueden metabolizar la lignina en la madera, sí alteran su estructura mientras descomponen los polisacáridos de la madera. La lignina de la madera podrida es también oscurecida por el ataque del hongo, posiblemente como resultado de la oxidación de algunas estructuras de o-difenoles formadas en la demetilación de anillos de grupos hidroxil fenólicos (KIRK, 1973).

2.6 Preservación de la madera.

Entre los procedimientos ideados para aumentar la utilidad de la madera - empleada en la construcción y sometida a condiciones que favorecen su pronto - deterioro por pudrición, insectos y otros agentes destructores, destaca sobre- todo el tratamiento químico preservador. La preservación de la madera abarca- todos los aspectos de este tratamiento.

La finalidad fundamental del tratamiento preservador de la madera es au- mentar la vida del material que se pone en servicio, disminuyendo así el costo final del producto y evitando la necesidad de substituciones frecuentes en - las construcciones permanentes o semipermanentes.

2.6.1 Tipos de preservadores.

En el último siglo, se han propuesto gran número de sustancias como pre- servadores de madera. Entre ellas se cuentan casi todos los productos quími- cos de costo moderado, así como subproductos de la industria y productos de de secho de toda clase. La gran mayoría de los preservadores sugeridos han resul- tado insuficientemente eficaces o poco prácticos, si no es que totalmente inú- tiles. Sin embargo, de vez en cuando aparecen nuevos productos, alguno de los cuales resulta útil (HUNT & GARRATT, 1962).

Los preservadores de madera son sustancias químicas que la hacen resisten- te a los ataques de los hongos, insectos y perforadores marinos. El efecto - protector se consigue haciendo la madera venenosa o repelente a los elementos- biológicos que la atacarían si no estuviese tratada (HUNT & GARRATT, 1962).

No existe algún preservador de la madera ideal para todos los fines o pro- pósitos en que se pretenda emplear, pero cualquier preservador debe cumplir - con ciertos requerimientos que se enuncian a continuación:

- El producto debe ser lo suficientemente tóxico, a una concentración conveniente, que permita proporcionar a la madera inmunidad al ataque de los enemigos a los cuales va a estar expuesta.

- El preservador debe ser capaz de penetrar en la madera a un nivel considerable.

- El preservador debe persistir en la madera durante muchos años en su forma activa.

- No debe ser corrosivo al metal o causar deterioro a la propia madera.

- El preservador no debe causar daño a la salud de los operarios o usuarios.

- El preservador debe ser de fácil manipulación y aplicación.

Para el tratamiento de la madera de construcción, de artículos manufacturados o para otros fines especiales, es a veces necesario emplear un preservador limpio, incoloro, inodoro, pintable, no dilatable, resistente al fuego, hidrófobo, o que presente cierta combinación de estas propiedades (HUNT & GARRATT, 1962; FINDLAY, 1975).

Dependiendo del tipo de solvente que requieran los preservadores, éstos se clasifican en tres diferentes clases (CROCKCROFT, 1971):

- a) Hidrosolubles, como las sales a base de cobre-cromo-arsénico.
- b) Solubles en solventes orgánicos, como el naftenato de cobre o zinc.
- c) Solubles en aceite de petróleo, como la creosota y el pentaclorofenol.

La elección del producto dependerá del tipo de servicio a que esté destinada la madera por tratar.

Los preservadores solubles en solventes orgánicos son, en general, más caros que la creosota y que los hidrosolubles, y su costo normalmente limita sus métodos de aplicación.

La principal ventaja de los preservadores solubles en solventes orgánicos sobre los hidrosolubles es que no hinchán ni tuercen la madera; también los solventes se evaporan de la madera relativamente rápido.

De entre los preservadores comerciales para madera, destaca la creosota, que es un destilado de alquitrán de hulla. Es un preservador que se ha empleado desde 1838, siendo hasta nuestros días el de mayor preferencia por todo el mundo, debido a que contiene numerosos componentes activos dentro de los cuales encontramos a los fenoles aromáticos mono y polinucleados, componentes de nitrógeno heterocíclicos e hidrocarburos alifáticos y aromáticos (LEVI, 1973).

El modo en que actúan los componentes de la creosota para conferir una excelente protección a la madera es muy variado, aunque se desconocen los detalles precisos. Los fenoles poseen una alta acción fungicida, desnaturando las proteínas de los hongos. Los componentes de nitrógeno heterocíclico intervienen en procesos metabólicos inhibiendo la generación de estructuras celulares. La mayoría de los hidrocarburos alifáticos y aromáticos poseen una baja actividad fungicida, pero llegan a afectar la división nuclear en las hifas. Los numerosos componentes de la creosota le confieren una protección física a la madera tratada, protección que indirectamente está relacionada con una protección biológica. Tal es el caso de los componentes hidrófobos encargados de retardar la entrada de humedad a la madera, inhibiendo a la vez el crecimiento de los hongos, ya que éstos requieren de cierto contenido de humedad para su desarrollo (LEVI, 1973).

El pentaclorofenol es otro de los preservadores comerciales que más promete y el más empleado de los de tipo oleosoluble. Es un compuesto químico cristalino (C_6Cl_5OH), formado por reacción del cloro sobre el fenol. Es sufi

cientemente soluble, para fines de conservación de la madera, en la mayoría de los aceites de petróleo de ebullición elevada; pero es más soluble en otros disolventes, cuya adición es a veces necesaria cuando se emplea como vehículo disolvente Stoddard u otro petróleo volátil. El pentaclorofenol es irritante para la piel y las mucosas; las personas que intervienen en su fabricación y uso han de adoptar precauciones y evitar el contacto prolongado con el producto o soluciones. Normalmente la concentración de pentaclorofenol en soluciones de petróleo para el tratamiento de la madera no es menor del 5% en peso. Naturalmente, la concentración puede variarse para fines especiales, pero la concentración corriente parece la mejor para uso general. Hay razones para creer que el carácter del disolvente usado con los fenoles clorados ejerce notable efecto sobre la acción del preservador. Es probable que con un disolvente que se evapore completamente, dejando el tóxico químico solo en la madera, la protección durará menos que con un disolvente no volátil o de volatilidad muy lenta que permanezca en la madera con el tóxico químico por algún tiempo (HUNT & GARRATT, 1962).

Se están realizando estudios para saber si un método satisfactorio consistiría en emplear creosota como disolvente para el pentaclorofenol, pero aún no se sabe si ésta solución prolongaría más la duración de la madera que la creosota sola, y si su uso compensaría el mayor costo.

2.6.2 Métodos de tratamiento.

Los tratamientos preservadores para madera son muchos y muy variados. Algunos requieren de plantas de impregnación, otros no requieren de equipos tan complicados y los hay aún de aplicación doméstica.

A continuación se expone brevemente los principales tipos de tratamiento (CARTWRIGHT & FINDLAY, 1958; CROCKROFT, 1971).

1. Procesos a presión
 - a) Célula llena.
 - b) Célula vacía.

2. Proceso de doble vacío.

3. Procesos sin presión
- a) Inmersión
 - b) Baño
 - c) Aplicación con brocha o aspersión.

4. Difusión en madera verde.

1.- Procesos a Presión.

a) Célula llena: En éste método, la madera se coloca en un cilindro o autoclave induciéndole vacío. Se llena entonces el cilindro con la solución preservadora hasta alcanzar presión hidráulica. Así se mantiene hasta obtener el grado de tratamiento deseado. Después se drena el cilindro y se aplica finalmente vacío que limpia la superficie de la carga para facilitar su manejo. En éste proceso se emplean generalmente preservadores hidrosolubles.

b) Célula vacía: En éste proceso, el vacío preliminar no es utilizado. Existen dos modalidades de éste método. El proceso Rueping, que consiste en colocar la carga del cilindro e inyectar aire a presión, después se aplica la solución hasta alcanzar presión hidráulica y por último se efectúa el vacío final. La segunda modalidad recibe el nombre de proceso Lowry y es semejante al anterior con la excepción de que al principio del tratamiento no se inyecta aire a presión. Se restringen estos procesos a tratamientos con creosota y preservadores oleosos.

2.- Proceso de Doble vacío.

La carga de madera en este proceso se coloca en el autoclave y se somete a un corto período de vacío. Al introducir solución preservadora, se libera el vacío obteniendo penetración moderada de solución en la albura. Después de drenar el cilindro, se aplica una segunda fase de vacío, proporcionando un cierto control sobre la absorción. Esto hace posible que la retención de la carga sea adecuada pero no excesiva. Por economizar solución preservadora, este proceso es adecuado en el empleo de preservadores con solventes orgánicos cuyo costo es relativamente alto.

3.- Procesos sin Presión.

a) Inmersión: Este proceso no requiere autoclave ni equipo de presión o vacío. Se emplea solamente una cuba de tratamiento en donde se sumergen - cargas de madera durante algunos minutos. En éste caso se utilizan también - preservadores con solventes orgánicos, especialmente preservadores insecticidas.

b) Baño: Aquí es necesario el empleo de un tunel de tratamiento a través del cual se impulsan mecánicamente piezas individuales de madera y durante el trayecto son rociadas con preservador. Se emplean preservadores con - solventes orgánicos. La impregnación por éste método retiene poco preservador.

c) Aplicación por brocha o Aspersión: Estos tratamientos brindan protección muy limitada, y sólo se emplean como mantenimiento o donde es posible renovar periódicamente el tratamiento.

4.- Difusión en Madera Verde.

Son varios los procesos que se aplican en maderas recién cortadas sin sazonar, en el aserradero. La madera se sumerge en las soluciones preservadoras y se apila estrechamente durante un período que permita la difusión total del o de los preservadores en toda la madera antes de que ésta se seque. Por último, se sazona la madera. Estos métodos emplean preservadores hidrosolubles a base de boro.

2.7 Pruebas de toxicidad.

¿Que es toxicidad?. Ahora, todos sabemos que los hongos son los responsables de la pudrición de la madera. También sabemos que ciertas sustancias químicas se inyectan a la madera para prolongar la vida de ésta. ¿Porqué?. - Por que las sustancias químicas envenenan tanto a la madera, que los hongos - no pueden alimentarse de ella y desarrollarse. Las cualidades venenosas o - tóxicas de las sustancias químicas es lo que se denomina "toxicidad".

Una prueba de toxicidad es una prueba para encontrar cuánto de una sustancia dada es necesario para prevenir el crecimiento de los hongos. Algunas sustancias químicas cuando son usadas en soluciones diluidas, actúan en el hongo como una pequeña dosis de veneno actúa en los humanos, éste es, estimulando la actividad. Las mismas sustancias químicas en soluciones fuertes o concentradas pueden ser letales. La prueba de toxicidad ayuda a determinar la concentración letal de una solución. Cuando es conocida la concentración requerida para sustancias, por ejemplo, a, b y c, es posible compararlas, y pudiera encontrarse que a es tres veces más venenosa que c, y b dos veces más venenosa que a. Con esto se conoce entonces la toxicidad relativa de éstas tres sustancias.

La efectividad de los preservadores puede ser determinada de dos formas, por observación de la madera tratada mientras se encuentra en servicio, o por pruebas de laboratorio. Las pruebas de servicio, por supuesto, aportan una excelente información y datos muy valiosos, y no se necesitaría otra prueba, si no fuera por el factor de que las pruebas de servicio son proposiciones a muy largo plazo.

Las pruebas de laboratorio no proporcionan la misma información, pero permiten determinar inicialmente la toxicidad relativa de un gran número de sustancias rápidamente y a un costo mínimo (RICHARDS, 1923).

Existen varias modalidades de pruebas de toxicidad en el laboratorio, como son:

- Pruebas en Malta-Agar: Emplean medio de cultivo Malta-Agar contienen diferentes concentraciones del preservador. El medio se coloca en cajas Petri o pequeños matraces Erlenmeyer en donde se inocular el hongo.

- Pruebas de Malta-Agar-Bloque: Se emplean pequeños bloques de madera de albura tratados con diferentes retenciones del preservador que se colocan-

sobre hongos previamente desarrollados sobre Malta-Agar en frascos Kollé u otros equivalentes.

- Prueba de Suelo-Bloque: Consisten en colocar bloques tratados a distintas retenciones, sobre micelio del hongo desarrollado en bloques no tratados de madera de albura que actúan como medio de cultivo y éstos, a su vez, colocados sobre suelo apropiado con un contenido de agua determinado, todo dentro de frascos convenientes.

La evaluación del preservador en el primer tipo de prueba se determina por el grado de desarrollo del hongo en el Agar, y en las dos últimas, por medio de la pérdida de peso sufrida por los bloques durante el ensayo (PINZON-PICASEÑO, 1972).

2.8 Poliéteres macrocíclicos.

Hasta el momento se ha presentado una breve introducción al campo de la madera y su preservación, con el fin de que se pueda comprender el porqué de la realización de éste trabajo. Ahora se hablará sobre las sustancias a las cuales se les determinó el primer parámetro necesario para saber si alguna de ellas podría, ser propuesta como preservador de madera.

2.8.1 Nomenclatura.

Los Poliéteres Macrocíclicos, son comunmente llamados "Eteres de Corona" (IZATT & CHRISTENSEN, 1978).

El epíteto "corona", fue aplicado al primer miembro descubierto de esta clase de poliéteres, porque su modelo molecular parecía una corona, cuyos cationes podían ser coronados o descoronados, como las cabezas de la realeza. De éste principio se desarrollo el nombre de corona.

Los nombres consisten de:

- a) El número y clase de anillo de hidrocarburo.
- b) El número total de átomos en el anillo del poliéter.
- c) El nombre clásico, corona; y
- d) El número de átomos de oxígeno en el anillo del poliéter.

Como los nombres son triviales, se condensan para alreviar, y se han tomado algunas libertades con ellos, tal como el uso de cichohexil para 1,2-hexahidrobenceno. Es posible hacer los nombres más precisos utilizando números posicionales, pero tal elaboración conduciría muy lejos del actual propósito principal. La nomenclatura corona, sirve para identificar los mejores complejos de compuestos de corona fácilmente y con una precisión razonable, pero es recomendado poner las fórmulas estructurales para identificación positiva (*ob. cit.*)

2.8.2 Propiedades

Los poliéteres aromáticos son compuestos cristalinos sin color y, para un anillo de poliéter dado, el punto de fusión aumenta con el número de grupos benzo. Estos compuestos, particularmente aquellos que contienen más de un grupo benzo, son casi insolubles en agua y poco solubles en alcohol y muchos otros solventes comunes a temperatura ambiente. Son fácilmente solubles en metileno, cloruros y cloroformo.

Otra propiedad de los compuestos de corona, rápidamente levantó el interés de la comunidad biológica. Su semejanza superficial con antibióticos macrocíclicos y su habilidad compartida para formar complejos con cationes alcalinos, impulsaron a varios investigadores de membranas biológicas y artificiales a usar compuestos de corona en experimentos designados a aclarar el mecanismo de transporte de sales a través de las membranas (*ob. cit.*).

2.8.3 Identificación

La comprobación de la estructura de los compuestos de corona está basada-

en su composición elemental, su peso molecular, espectro infrarrojo y de resonancia magnética nuclear. Estas propiedades de cada uno de los compuestos - auténticos están correlacionados con sus estructuras propuestas. Ocasionalmente, las estructuras fueron determinadas por análisis de rayos X y por espectroscopia de masas de alta resolución (*ob. cit.*).

El espectro de ultravioleta de los compuestos de corona conteniendo grupos benzo tiene bandas de absorción, en metanol, a 273-275 nm. El coeficiente de extinción, ϵ de éstos compuestos tiene un rango de 2100 a 8400 $\text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, dependiendo del número de grupos benzo (de 1 a 4). Los compuestos de corona saturados no absorben en ésta región.

El espectro de infrarrojo establece la ausencia de cualquier grupo hidroxil, e indica la presencia de enlaces éter por bandas fuertes cerca de 8.1μ para aromático-O-alifático, y 8.85μ para alifático-O-alifático.

El espectro de RMN, obtenido en deuteriocloroformo, confirma la ausencia de grupos terminales, tales como hidroxil o alcoxi (IZATT & CHRISTENSEN, 1978).

3. OBJETIVOS Y FINALIDADES

El presente trabajo se realizó con el fin de conocer las propiedades fungicidas de 12 derivados de Poliéteres Macrocíclicos, llamados comunmente - - "Eteres de Corona".

Se quiere conocer la toxicidad relativa que ejercen los reactivos anteriormente mencionados contra tres especies importantes de hongos que causan pudrición en la madera.

El primer objetivo, consistió en estudiar 12 reactivos en forma cualitativa y semicuantitativa. Con los casos en los que fueron obtenidos resultados positivos y satisfactorios, se proseguiría con un estudio cuantitativo, - con el fin de determinar con mayor exactitud el grado de toxicidad de los - - reactivos ensayados.

Otro objetivo primordial, fue el de calcular la Dosis Efectiva Media - (DE₅₀), de aquellos reactivos que a la concentración de 144 μ m/l , provocaron una inhibición en el crecimiento del micelio, mayor de 50%.

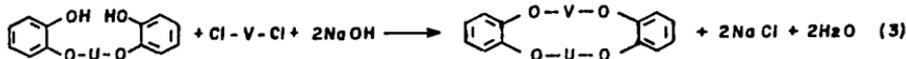
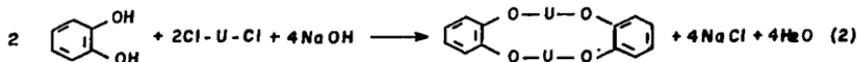
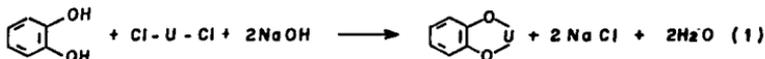
Los resultados que se obtengan en el presente trabajo, servirán para justificar la propuesta de realizar estudios más detallados de los "Eteres de Corona", con el fin de aprovechar éstas sustancias como preservadores de madera.

4. ANTECEDENTES

4.1 Síntesis de Poliéteres.

El primer compuesto de poliéter cíclico, (diB18C6), fue formado como un inesperado producto durante la preparación del éter bis 2-(o-Hidroxifenoxi) - étil a partir del éter bis (2-cloroetil) y de la sal sódica de 2-(o-Hidroxifenoxi) tetrahidropirano que contenía una pequeña cantidad de catecol. Subsecuentemente más de 60 poliéteres macrocíclicos han sido sintetizados.

CHRISTENSEN *et al.* (1974), publicaron que los poliéteres de corona aromáticos son preparados por métodos de condensación directa, ejemplificados por las ecuaciones estequiométricas que se presentan enseguida, en donde U y V re presentan grupos orgánicos divalentes, generalmente del tipo $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$. Las condensaciones por lo general son corridas en 2-butanol bajo reflujo por 12 ó 24 horas.



CHRISTENSEN, decía que el método 1 puede ser utilizado, por ejemplo, para preparar B15C5, B12C4, B18C6. El método 2, da por ejemplo, diB18C6, diB24C8, o diB30C10. El material para iniciar el método 3 se hace atacando un grupo pro

ector de una base estable, por ejemplo, bencil o tetrahidropiranol, a uno de los hidroxilos del catecol, condensando 2 moles de ésto con Cl-U-Cl, y después removiendo el grupo protector. El método 3 es sugerido para síntesis de anillos de poliéter con número impar, por ejemplo, diB21C7.

Los poliéteres saturados son preparados de su aromático correspondiente por hidrogenación catalítica, típicamente en 2-butanol a 100° y 7-10 atmósferas sobre un catalizador. La recuperación del producto es mejor si se hace por cromatografía de columna sobre alúmina, y los porcentajes de rendimiento son mucho mayores.

PEDERSEN (1970), concluyó que era evidente que los compuestos aromáticos tenían un rendimiento mayor para anillos de 15-corona-5 y 18-corona-6, seguidos de anillos 14-corona-4, 21-corona-7, y 24-corona-8, y los rendimientos más bajos eran para compuestos que no formaban complejos estables.

PEDERSEN (1969), sintetizó 33 poliéteres cíclicos, derivados de dioles aromáticos conteniendo de 9 a 60 átomos incluyendo de 3 a 20 átomos de oxígeno en el anillo. Algunos de los poliéteres sintetizados, dieron buenos rendimientos sin utilizar técnicas de alta dilución.

4.2 Actividad Bioquímica de los Poliéteres.

Los poliéteres macrocíclicos (Eteres de Corona) han incrementado recientemente y considerablemente el interés de la investigación en el campo de la Bioquímica.

WUNG-WAI TSO *et al.* (1981), se dieron cuenta que los éteres de corona se comportaban semejantemente a los ionóforos naturales, tales como gramicidina, valinomicina, nigericina y nomactina, influenciando el transporte de iones metales alcalinos a través de la membrana de las células. Encontraron también que en los procariontes, al igual que en mamíferos, los éteres de corona eran tóxicos, y que ésta toxicidad era influencia por la presencia de iones meta-

les alcalinos. Su último reporte fue, que, añadiendo NaCl o KCl al caldo nutriente, varios derivados de éteres de corona presentaban diferentes aspectos en el crecimiento de *E. coli*.

KATO, *et al.* (1980), investigaron la actividad antimicrobial de una clase de éteres de corona incluyendo octil, decil y duodecil homólogos de éteres de corona 15-, 18- y 21-. Estos compuestos presentaron una actividad bacteriostática fuerte contra bacterias Gram (+), pero una actividad antimicrobial muy débil contra bacterias Gram (-), mohos y levaduras. La actividad de - - éstos éteres de corona se incrementaba o disminuía conforme a la longitud de la cadena.

Nuevamente, KATO, *et al.* (1980), presentaron datos de la actividad antimicrobial de otra clase de éteres de corona que incluían hexil, octil, decil y duodecil homólogos de éteres de corona 15- y 18-. Estos compuestos presentaron una fuerte actividad antimicrobial contra bacterias Gram (+), mohos y levaduras, pero poca actividad bacteriostática contra bacterias Gram (-). Publicaron también que la actividad antimicrobiana de los alquil éteres de corona cambiaba marcadamente con la alcalinidad de la cadena y su longitud, por ejemplo, el éter 18-corona, mostraba una actividad mayor que el éter 15-corona, y que el decil-18-corona-6 presentó la mayor actividad antimicrobiana entre todos los compuestos sometidos a prueba.

4.3 Trabajos sobre hongos xilófagos y preservación de la madera en México.

A pesar de la importancia económica que representa la descomposición de la madera por hongos xilófagos, y la preservación de la misma para la industria maderera y en la conservación de los productos forestales, en México no se le ha dado el auge necesario para realizar investigaciones variadas sobre ello, por lo cual existe poca literatura.

El trabajo más antiguo que se logró localizar en México fue una tesis profesional de GARCIA CARMONA (1948), que trató sobre resistencia natural de

maderas de angiospermas contra hongos xilófagos. En éste trabajo se ensayó - con *Lenzites trabea* y *Poria incrassata* por pruebas de Malta-Agar-Bloque, llegando a la conclusión de que éste último hongo era el más dañino para las maderas mencionadas.

PROO (1963), quién probó la acción del alquitrán de coyol como preservador de madera contra el ataque de hongos xilófagos y lo comparó con pentaclorofenol y creosota de hulla, utilizando una técnica de contacto Suelo-Bloque. La evaluación del preservador se hizo determinando el crecimiento de colonias de hongos en las tiras de madera de ensayo.

GOMEZ NAVA *et al.* (1969), realizaron otro estudio, determinando la resistencia natural de la madera mediante una técnica de Malta-Agar-Bloque, utilizando once especies de madera, que fueron atacadas por 3 cepas de hongos xilófagos: *Polyporus sanguineus*, *Lentinus lepideus* y *Stereum sanguinolentum*. - Las determinaciones se refirieron a la pérdida de peso originadas por la actividad de los hongos de prueba, expresadas en cifras porcentuales relativas al peso seco original de los bloques.

Más recientemente, se realizaron observaciones acerca de la inducción de resistencia al ataque de hongos xilófagos en maderas tratadas con niveles variables de radiaciones gamma en bloques de 3 especies de madera, atacada por los siguientes hongos xilófagos: *Lentinus lepideus* y *Polystictus versicolor*, - mediante una técnica de Malta-Agar-Bloque. Esto fue realizado por SALINAS - QUINARD *et al.* (1971), quienes hicieron las determinaciones en función de pérdidas de peso, en porcentos, sufrido por la madera al término de 24 semanas de exposición a los hongos. Observaron que a cierto nivel de dosificación de radiaciones, la resistencia de la madera aumentó ligeramente.

PINZON PICASEÑO (1972), realizó un trabajo, en el cual se evaluó la toxicidad relativa de los principales preservadores para madera disponibles en el país en ese tiempo, contra hongos xilófagos aislados en México. Se emplearon, como agentes xilófagos a : *Lentinus lepideus* Fr., *Poria monticola* Murr., - -

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Lenzites trabea Pers. ex Fr. y *Peniophora* sp.; y como preservadores, creosota de hulla, pentaclorofenol y dos tipos de sales a base de arsénico, cobre y cromo. Los resultados señalaron a *Lenzites trabea* como el hongo más dañino a *Pinus pseudostrobus* sin preservar. Los umbrales encontrados en este trabajo fueron, para *L. lepideus* con creosota, 3.70-3.80 lb/pie³; con pentaclorofenol, 1.40-1.50 lb/pie³; en *P. monticola* con creosota, 1.80-2.00 lb/pie³, y para *L. trabea* con CCA-B, de 0.18 lb/pie³. Para los demás casos no pudo determinar valores umbrales. Se determinó también que al aumentar la retención, se incrementa el grado de lixiviación de los preservadores, siendo mayor en creosota y pentaclorofenol.

Experimentalmente, PINZON-PICASEÑO y ECHENIQUE-MANRIQUE (1974), emplearon dos preservadores hidrosolubles, las sales a base de cobre, cromo y arsénico conocidas como CCA tipo A y CCA tipo B, más otros dos no hidrosolubles, creosota y pentaclorofenol, impregnados en bloques de dos especies de pino con el fin de determinar aquellas retenciones mínimas del preservador por volumen de madera capaces de evitar el deterioro de cada hongo de prueba: *Lentinus lepideus*, *Poria monticola*, *Lenzites trabea* y *Peniophora* sp. A partir de sus resultados, estos autores sugieren que las retenciones mínimas de preservador eficaces para prevenir el ataque de los hongos ensayados, expresadas como lb/pie³, son: para creosota, de 2.50-3.00; para pentaclorofenol, a partir de 2.50; para CCA tipo A desde 1.70; y para CCA tipo B de 0.50.

Estos mismos autores, PINZON-PICASEÑO Y ECHENIQUE-MANRIQUE (1976), recopilaron datos bibliográficos sobre la historia, usos, fijación en madera y toxicidad hacia los hongos xilófagos, de dos preservadores hidrosolubles, sales a base de cobre, cromo y arsénico conocidas como CCA tipo A y CCA tipo B.

HERRERA RODRIGUEZ *et al.* (1976), realizaron un ensayo para determinar la resistencia natural de la madera de 15 especies al ataque de 3 hongos xilófagos: *Poria monticola*, *Lentinus lepideus* y *Polystictus sanguineus*, los dos primeros causantes de pudrición morena y el último de pudrición blanca, mediante una técnica de Suelo-Bloque. De las especies estudiadas, la madera de - - -

Quercus crassifolia, *Quercus candicans*, *Zwartzia cubensis* y *Calophyllum - brasiliensis*, mostraron ser altamente resistentes a la acción de *Poria monticola* y *Lentinus lepideus* y la de *Alnus firmifolia* quedó clasificada como no resistente a estos mismos hongos. La madera de las especies restantes ocupó categorías intermedias.

HERRERA RODRIGUEZ (1977), recopiló una serie de métodos sencillos y de bajo costo para la preservación de madera, con el fin de orientar a los usuarios de la madera hacia algunas formas más simples y económicas de incrementar la vida útil de las mismas.

PEREZ MORALES *et al.* (1977), con la técnica de Suelo-Bloque, expusieron la madera de cuatro especies mexicanas al ataque de cuatro hongos xilófagos: *Lentinus lepideus*, *Lenzites trabea*, *Polyporus versicolor* y *Polyporus sanguineus*. Estos últimos mostraron mayor agresividad, mientras que *Guarea chichon* fue la madera más resistente.

LOPEZ GUERRERO (1979), efectuó la caracterización de veinte cepas de hongos xilófagos desde el punto de vista del biodeterioro de la madera. Las cepas que utilizó fueron sometidas a una serie de técnicas sencillas de corta duración que le permitieron determinar el tipo de pudrición que causan, su capacidad de producir pudrición y a partir de ésta su agresividad, así como su tolerancia a un preservador para madera, la creosota.

Uno de los trabajos más recientes es el que realizó VELIZ AVILA (1982), en el cual caracterizó, experimentalmente, desde el punto de vista del biodeterioro de la madera, a 22 cepas de hongos xilófagos provenientes de la Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas", Ver. En dicho trabajo, se emplearon técnicas de fácil manejo y de corta duración para asegurar la confiabilidad y reproducibilidad. La caracterización constó de tres partes básicas: la determinación del tipo de pudrición; la estimación de la capacidad de producir pudrición y a partir de ésta, la agresividad y finalmente la evaluación de la tolerancia a un preservador para madera, la creosota. A partir de los datos que

obtuvo, sobre la capacidad de producir pudrición, es propuesta una clasificación de los hongos ensayados en categorías de agresividad. La evaluación de la tolerancia de los hongos fué a partir de las mediciones de su crecimiento diametral a distintas concentraciones de preservador incorporadas en un medio de Malta Agar. Con base en los valores en porcentajes relativos del crecimiento diametral de las cepas, propuso una clasificación de la tolerancia de las mismas.

4.4. Toxicidad de preservadores para madera.

Los antecedentes bibliográficos acerca de la toxicidad de los preservadores de madera contra hongos causantes de pudrición, no son muy amplios. Hay investigaciones enfocadas hacia la toxicidad de los preservadores, y otros que consideran el potencial fisiológico de los hongos enfrentados a un determinado preservador.

La gran mayoría de los trabajos relacionados con la preservación, están enfocados hacia la evaluación tóxica, motivo por el cual se han desarrollado diversas técnicas tendientes a valorar en un lapso de tiempo relativamente corto, la acción de los preservadores para madera.

Ya desde 1923, RICHARDS realizó una revisión experimental de las diversas técnicas tendientes a evaluar preservadores para madera. El centro de la discusión lo basa en dos técnicas: Malta-Agar y pruebas con madera impregnada. Comparando las conveniencias e inconveniencias existentes en ambos tipos de técnicas, recomienda el empleo de preservadores incorporado a un medio de Malta Agar, ya que a pesar de ser un medio enteramente distinto al sustrato original, la madera, resulta adecuado para favorecer el crecimiento de los hongos de ensayo.

SCHMITZ *et al.* (1931), sugirieron un método para evaluar la toxicidad de preservadores para madera, según el cual, cantidades diversas del preservador son añadidas al medio de cultivo de Malta Agar para obtener concentraciones a

escala logarítmica. El medio con preservador es vertido a cajas Petri que posteriormente son inoculadas con el hongo seleccionado y los resultados son evaluados según el crecimiento diametral de la colonia.

Para probar la efectividad de diversas técnicas de Suelo-Bloque y Malta-Agar-Bloque, BRAVERY (1968), estimó los grados de tolerancia de *Chaetomium globossum*, hongo causante de la pudrición suave hacia un preservadora base de sales de cobre, cromo y arsénico. Concluyó que los valores en los límites de toxicidad son mayores a períodos más largos de incubación, que los valores de toxicidad determinados en las pruebas de Agar-Bloque son mayores que en las de Suelo-Bloque y que la variación entre las repeticiones es mayor en las pruebas de Agar-Bloque, por lo que considera que los métodos más satisfactorios para los hongos causantes de pudrición suave son los de Bloque enterrado en el Suelo.

Algo novedoso, es el trabajo de SMITH (1971), quien diseñó un método rápido para la evaluación de preservadores. Utilizó dos tipos de madera de chapa tratada, puestas en contacto con suelo en cámaras de acrílico. La evaluación consiste en medir la resistencia tensil de la madera pasado un determinado lapso de tiempo.

DA COSTA *et al.* (1972), evaluaron la acción de preservadores hidrosolubles incorporados a los adhesivos de madera contrachapada frente a especies de hongos causantes de pudrición blanca y morena. Los criterios de evaluación de los preservadores fueron basados en los porcentajes de pérdida de peso de la madera en un medio de Suelo-Bloque.

DICKINSON (1974), desarrolló una técnica sencilla para una evaluación rápida de preservadores. Esta prueba consiste en usar un papel filtro previamente tratado, al cual se le inoculan los hongos xilófagos. El tiempo de duración es de dos semanas, evaluando la toxicidad del preservador mediante la medición del crecimiento diametral del hongo en cuestión.

SUTTER (1978), describió otra técnica para evaluar preservadores. Esta técnica consiste en emplear rebanadas transversales delgadas de madera de gimnospermas, tratarlas y enfrentarlas a hongos causantes de pudrición, previamente desarrollados en un medio de cultivo conteniendo extracto de malta, caseína, peptona y agar. La efectividad del preservador es determinada por el grado visual de deterioro de la madera después de 3 semanas de exposición a los hongos. Según este autor, los resultados obtenidos por este método son comparables a los que aportan otras técnicas ya normalizadas.

THORNTON & COLLETT (1979), diseñaron una prueba de laboratorio para determinar el uso potencial de 4 fungicidas contra *Serpula lacrymans*, hongo causante de pudrición morena. La duración de la prueba es de 2 semanas y consiste en el empleo de cajas Petri con divisiones que sirvan como cámaras múltiples de pudrición adecuadas en una sola caja Petri. La evaluación del preservador se lleva a cabo con base en la determinación de la pérdida de peso de los bloques tratados.

LOPEZ GUERRERO (1979), utilizó la técnica de Malta Agar en caja Petri, inicialmente descrita por SCHMITZ *et al.* (1931), para estimar la tolerancia relativa de 20 cepas de hongos xilófagos a la creosota. Para la evaluación de los resultados, utilizó las medidas de crecimiento diametral de las colonias, convertidas a porcentajes relativos con respecto al crecimiento del micelio en medio sin preservador. Encontró que *Schizophyllum commune* fue el hongo más tolerante a la creosota, seguido después por *Polystictus sanguineus* y *Lenzites trabea*, mientras que *Coniophora cerebella* fue el hongo menos tolerante.

Por último, encontramos el trabajo realizado por VELIZ AVILA (1982), quién también estimó la tolerancia relativa de 22 cepas de hongos Basidiomicetos a la creosota, por el método descrito por SCHMITZ *et al.*, encontrando que *Poria* sp. y *Ganoderma applanatum* fueron los hongos más tolerantes al preservador, mientras que *Polyporus* sp., resultó ser el más susceptible.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 Cepas utilizadas.

Las cepas utilizadas fueron tres: *Coriolus versicolor*, *Pycnoporus coccineus* y *Tyromyces palustris*.

5.1.1 *Coriolus versicolor*

En la literatura, se encuentran mencionados muchos nombres para éste hongo:

Polyporus versicolor
Trametes versicolor
Polystictus versicolor
Polyporus azureus

Este hongo se caracteriza por tener la superficie superior del pileo aterciopelada y marcada de zonas concéntricas de diversos colores, que varían entre café amarillento, gris amarillento, gris azulado o rojizo, llegando a presentarse en los estados muy adultos casi en su totalidad azul negro (LANGE & MORTEN, 1976).

Este hongo no es comestible. En algunos países se utiliza en ornamentaciones navideñas (*ob. cit.*).

Es común sobre troncos o tocones de zonas templadas y subtropicales, fuera o dentro de los bosques, incluso en los jardines. Es destructor de la madera muerta (GUZMAN, 1977).

Coriolus versicolor causa pudrición blanca. Puede causar pudriciones del duramen de árboles vivos y pudriciones de albura, causando parasitismo (CARTWRIGHT & FINDLAY, 1958).

Es un hongo comparativamente resistente a la mayoría de los antisépticos, tanto preservadores oleaginosos como soluciones acuosas de sales tóxicas. Es notablemente resistente a substancias fenólicas como el ortofenilfenol, presumiblemente porque posee un activo sistema de fenoloxidasas (*ob. cit.*).

Es un hongo cosmopolita, pero es muy común en Europa (OVERHOLTS, 1953).

5.1.2 *Pycnoporus coccineus*

Otros nombres citados en la literatura son:

Pycnoporus cinnabarinus

Boletus cinnabarinus

Boletus coccineus

Trametes cinnabarina

Este hongo tiene su habitat en madera muerta de varios árboles de angiospermas caducifolias; ocasionalmente sobre madera de coníferas; y muy de vez en cuando en duramen de haya viva (OVERHOLTS, 1953).

Pycnoporus coccineus es un hongo que causa pudrición blanca (*ob.cit.*).

Este hongo está distribuido en países colindantes con el Pacífico y Océano Indico (DONK, 1974), y también se ha encontrado en Canadá, Estados Unidos, Europa y Asia (MURRILL, 1961).

5.1.3 *Tyromyces palustris*

Este hongo, solo tiene otro nombre citado, que es:

Polyporus palustris

Tiene su habitat sobre madera muerta de árboles de coníferas; es más notable en *Pinus* spp. Se ha logrado aislar de los troncos de *Pinus palustris* y --

ciertas otras especies de pinos del sur de Estados Unidos (OVERHOLTS, 1953).

Tyromyces palustris produce pudrición morena carbonosa del duramen (ob. - cit.).

Su distribución es: Bahamas, Canadá, Cuba y Norteamérica (Carolina del Sur, Georgia, Florida, Louisiana y Mississippi) (MURRIL, 1961).

5.2 Reactivos utilizados.

Como ya hemos mencionado varias veces, los reactivos utilizados son derivados de los comunmente llamados Eteres de Corona.

Las fórmulas estructurales de los reactivos utilizados se muestran en la figura 1.

La tabla 1 muestra las fórmulas condensadas, pesos moleculares y puntos de fusión de los reactivos utilizados.

De los reactivos utilizados en el presente trabajo, el diCH18C6, el diB24C8, el diCH24C8 y el Kriptofix 22 DD, fueron adquiridos de casas comerciales.

El MB15C5, el tBuB15C5, el B18C6 y el MB18C6, fueron sintetizados por el Dr. Koji Yagi et al, en años anteriores, basándose en el método de C.J. Pedersen.

Los reactivos B15C5, tBuB18C6 y ditBudiB18C6, fueron sintetizados durante el presente trabajo. Las síntesis de éstos tres últimos reactivos, también fueron realizadas en base a los artículos publicados por C.J. Pedersen en 1967. A continuación, se explica detalladamente la síntesis de cada uno de ellos.

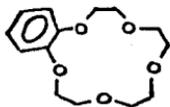
B15C5

Una mezcla de 27.5 g (0.25 moles) de catecol, 400 ml de 1-butanol y 34.48g

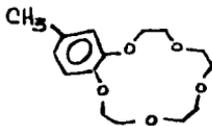
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

FIGURA 1

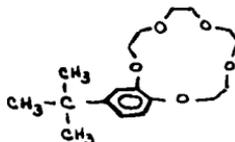
FORMULAS ESTRUCTURALES DE LOS DERIVADOS DE LOS ETERES DE CORONA



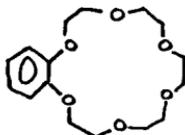
B15C5



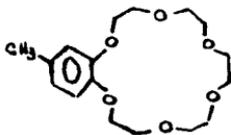
MB15C5



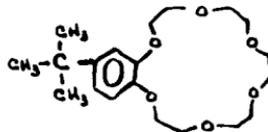
tBuB15C5



B18C6



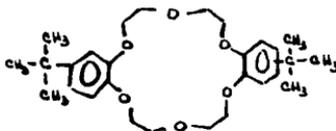
MB18C6



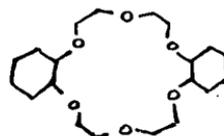
tBuB18C6



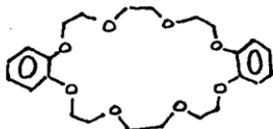
diB18C6



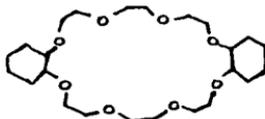
ditBudiB18C6



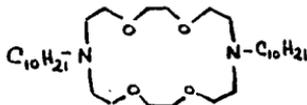
diCH18C6



diB24C8



diCH24C8



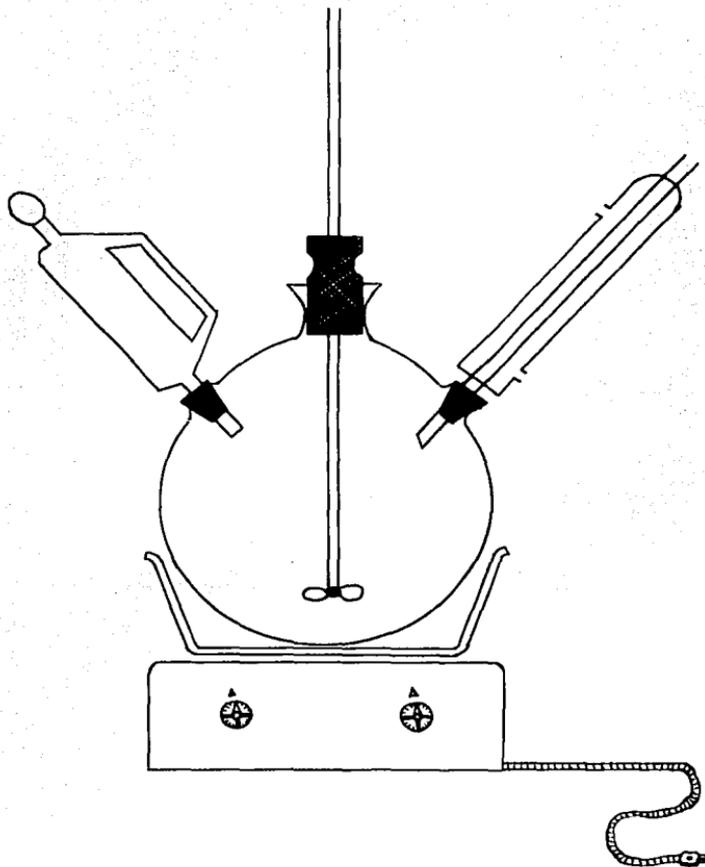
Kriptofix 22 DD

TABLA 1

REACTIVOS UTILIZADOS EN ESTE TRABAJO

NOMBRE	COMPUESTO ABREVIATURA	FORMULA CONDENSADA	P.M.	P.f.
Benzo-15-corona-5	B15C5	$C_{14}H_{20}O_5$	268	79.0-79.5°C
Metilbenzo-15-corona-5	MB15C5	$C_{15}H_{23}O_5$	283	47.0-49.0°C
<i>ter</i> -Butilbenzo-15- corona-5	<i>t</i> BuB15C5	$C_{18}H_{28}O_5$	324	43.5-44.5°C
Benzo-18-corona-6	B18C6	$C_{16}H_{24}O_6$	312	43.0-44.0°C
Metilbenzo-18-corona-6	MB18C6	$C_{17}H_{27}O_6$	327	50.5-51.5°C
<i>ter</i> -Butilbenzo-18- corona-6	<i>t</i> BuB18C6	$C_{20}H_{32}O_6$	368	35.0-37.0°C
Dibenzo-18-corona-6	diB18C6	$C_{20}H_{24}O_6$	360	164°C
Di- <i>ter</i> -butil-dibenzo- 18-corona-6	di <i>t</i> BuDiB18C6	$C_{28}H_{40}O_6$	472	120 - 125°C
Diciclohexil-18-coro- na-6	diCH18C6	$C_{20}H_{36}O_6$	372	68.5-69.5°C
Dibenzo-24-corona-8	diB24C8	$C_{24}H_{32}O_8$	448	113 - 114°C
Diciclohexil-24-coro- na-8	diCH24C8	$C_{24}H_{44}O_8$	460	Menos de 26°C
Kriptofix 22 DD	—	$C_{32}H_{66}N_2O_4$	543	37.0-38.0°C

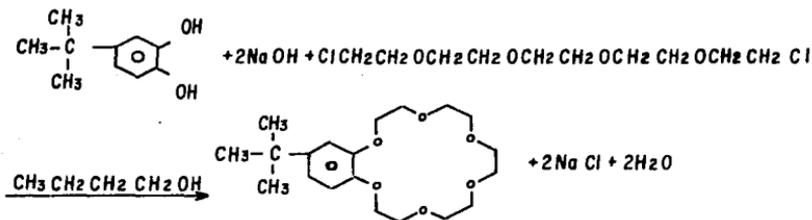
FIGURA 2. APARATO DE REFLUJO.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La purificación del tBuB18C6 fue realizada por Cromatografía en Columna - (figura 3), utilizando como fase estacionaria Al_2O_3 y como eluentes, benceno, benceno-tetrahidrofurano (1:1), tetrahidrofurano destilado y Metanol, en ese orden; después de cada elución, la solución fue destilada para evaporar el solvente y recristalizada en refrigeración; fueron obtenidos 10.05 g de cristales, lo cual indica un rendimiento del 50%, con un rango de fusión de 34 a 35°C.

La reacción producida en ésta síntesis, se describe a continuación:

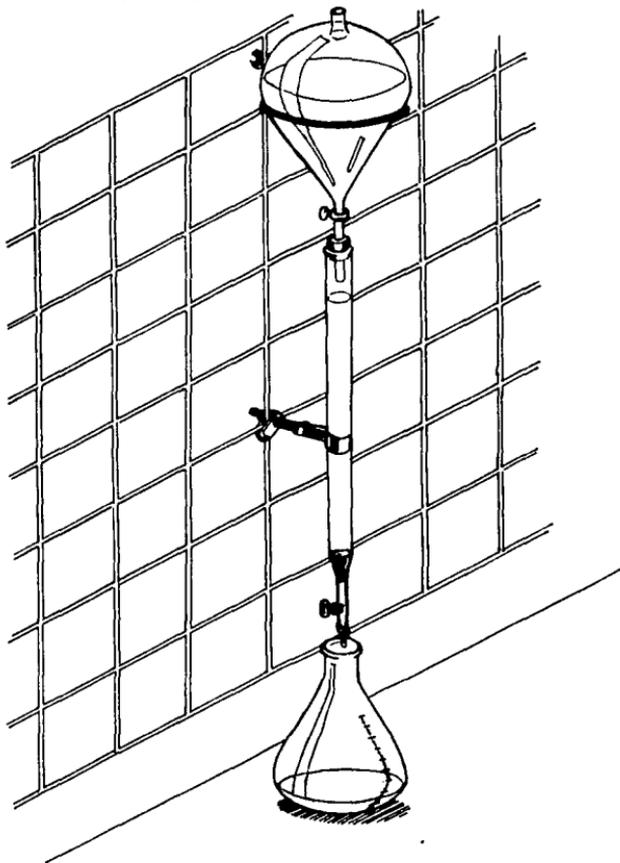


ditBudiB18C6

Una mezcla de 33 g (0.2 moles) de 4-t-butylcatecol, 200 ml de 1-butanol, y 8 g (0.2 moles) de hidróxido de sodio fue reflujaada bajo nitrógeno por 30 minutos para asegurar la disolución completa del hidróxido de sodio (temperatura aproximada de 115°C). Una solución de 14.73 g (0.103 moles) de bis(2-cloroetil) éter diluido con 10 ml de 1-butanol fue adicionada gota a gota en 2 horas, y la mezcla fue reflujaada por 1 hora. La temperatura fue bajada a 90°, y fueron agregados 8 g (0.2 moles) de hidróxido de sodio. El reflujo se continuó por 30 minutos, y fue agregada una solución de 14.73 g (0.103 moles) de bis(2-cloroetil) éter diluido con 10 ml de 1-butanol gota a gota por 2 horas. El reflujo se continuó por 16 horas (figura 2).

Fueron agregados lentamente 1.4 ml de ácido clorhídrico concentrado, y rápidamente fueron quitados 47 ml del solvente por destilación. La destilación se continuó, pero el volumen en el matraz se mantuvo constante por la adición continua de agua, hasta 10 minutos después de que la temperatura de vapor - -

FIGURA 3. CROMATOGRAFIA EN COLUMNA



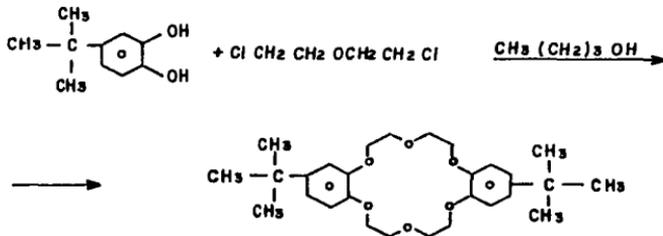
alcanzó 100°C (aproximadamente 3 horas).

La mezcla fue reflujaada con 100 ml de hexano por 20 minutos, se procedió a adicionarle sulfato de magnesio, fue sometida a filtración y a refrigeración por 3 días; pasado este tiempo, la mezcla fue filtrada a vacío, reflujaada con hexano por 20 minutos y refrigerada 12 horas.

La solución fue destilada hasta la mitad de su volumen, filtrada y refrigerada 24 horas.

Fueron obtenidos unos cristales amarillos que fueron secados a vacío y -purificados por cromatografía de columna, utilizando como fases estacionaria Oxido de Aluminio neutro para Control de Calidad, y como fase móvil, hexano-heptano (1:1), benceno, benceno-tetrahidrofurano (1:1), tetrahidrofurano destilado y metanol, en ese orden. Después de cada elución, la solución fue destilada para evaporar el solvente y el residuo fue secado a vacío. Se obtuvieron 7.76 g de cristales color beige claro, o sea un rendimiento de 8%. El producto presentó un rango de fusión de 120 a 125°C.

La reacción producida en ésta síntesis, se describe a continuación:

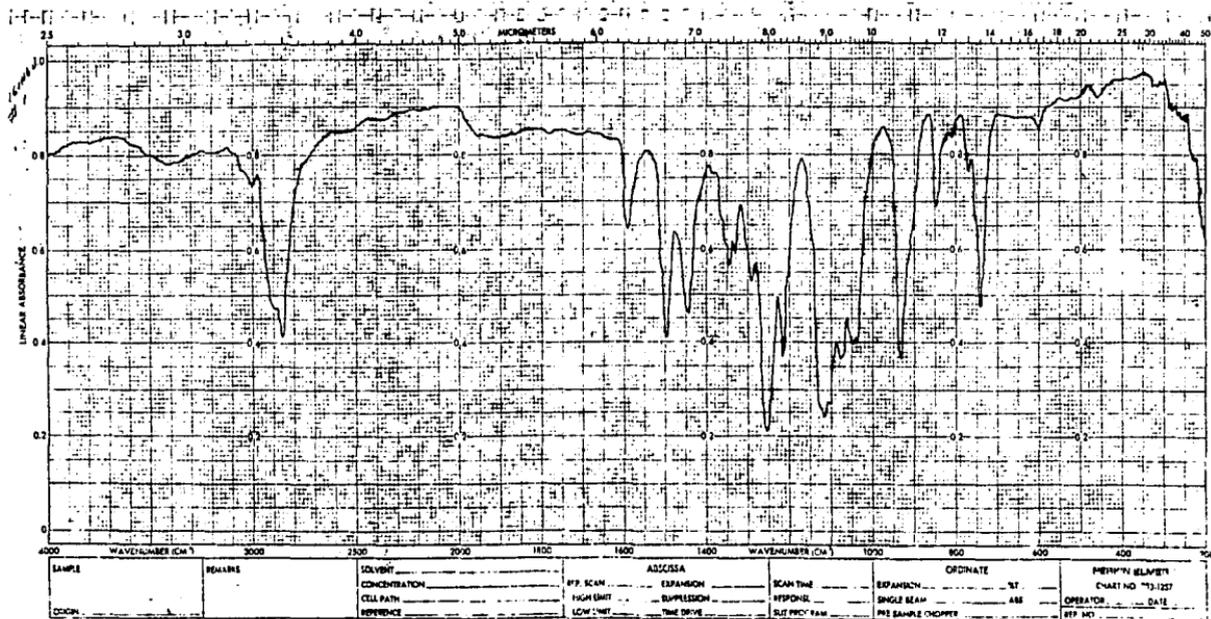


Los espectros infrarrojo obtenidos de cada una de las síntesis anteriormente descritas, se muestran a continuación.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

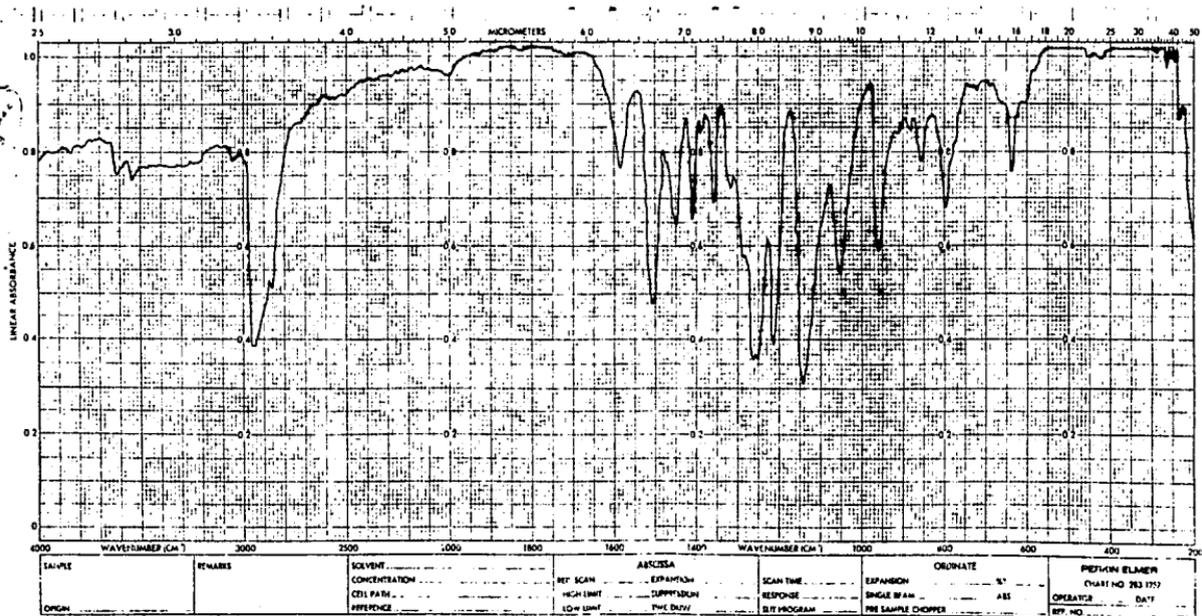
ESPECTRO INFRARROJO DE B15C5

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN



TESIS CON FALTA DE ORIGEN

ESPECTRO INFRARROJO DE ditBudib18C6



5.3 Medio de Cultivo.

El medio de cultivo utilizado fue el de Papa-Dextrosa-Agar (PDA), en concentraciones del 5 y 20%. El medio de 20%, fue utilizado para la prueba cualitativa y para la obtención del inóculo inicial, y el de 5%, para las pruebas semicuantitativa y cuantitativa.

La diferencia de concentraciones se utilizó con el fin de tener control en el crecimiento del micelio.

La composición del medio de cultivo PDA, es la siguiente:

Papa.....	5 ó 20% (según la concentración deseada)
Dextrosa.....	2.0%
Agar.....	1.5%

Para la preparación del medio de cultivo, se procedió a pelar y picar la papa, ponerla a hervir en agua destilada por espacio de 1 hora, filtrar con gasa, agregar la dextrosa y aforar. Esto fue distribuido en matraces Erlenmeyer de 50 y 100 ml, en los cuales previamente se colocó el agar.

Los matraces fueron tapados con algodón y papel aluminio y se esterilizaron en autoclave.

5.4 Inóculo Inicial.

El inóculo inicial se realizó a partir de micelio disponible en tubos de cultivo.

Fueron tomadas dos porciones con asa microbiológica, las cuales fueron colocadas en tubos de cultivo conteniendo 5 ml de agua destilada esterilizada y cubiertos con tapones de algodón.

Estas suspensiones fueron agitadas para homogenizarlas y fueron vaciadas en matraces Erlenmeyer que contenían el medio de cultivo al 20%, esterilizado, sin solidificar. En este paso fue importante controlar la temperatura del medio de cultivo, la cual debió ser menor de 40°C para evitar la destrucción del hongo.

La suspensión del hongo en el medio de cultivo fue agitada vigorosamente para homogenizar, fue vaciada a cajas Petri estériles (aproximadamente 20 ml - del medio de cultivo en cada caja), y se dejaron solidificar. Esto fue llevado a cabo con cada uno de los hongos, y todo el trabajo fue realizado en ambiente estéril.

5.5 Ensayo Cualitativo.

Como ya ha sido mencionado, para este ensayo fue utilizado, como medio de cultivo, PDA al 20%, ya que así, el micelio crecería más rápido y más homogéneamente, para cubrir toda la superficie del medio.

Para la realización de este ensayo, fueron preparadas las soluciones de los reactivos, a una concentración del 10% (5 mg de reactivo/0.5 ml de solvente). El solvente utilizado fue dimetilformamida (DMF).

Una vez solidificado el medio del inóculo inicial, se procedió a humedecer un disco de papel filtro estéril en la solución de cada uno de los reactivos, y fue colocado sobre el medio. El mismo procedimiento fue seguido con la dimetilformamida (DMF) destilada para utilizarla como blanco y tener un marco de referencia.

En cada caja Petri fueron colocados 3 discos humedecidos con diferentes reactivos, con el fin de tener una mejor idea del grado de toxicidad de ellos, al tener una visión en conjunto. Este ensayo fue realizado por duplicado para cada reactivo.

Las cajas Petri ya preparadas, fueron guardadas en una caja de plástico-transparente, previamente desinfectadas con alcohol al 70% e incubadas a temperatura ambiente, por espacio de 3 días, al término de los cuales se observó y midió el halo de inhibición, producto de la toxicidad de cada reactivo ensayado.

5.6 Ensayo Semicuantitativo.

Para este ensayo, se utilizó medio de cultivo PDA al 5%, para que el crecimiento del micelio fuera lento y se pudieran tener datos de la medición diametral del micelio, más confiables.

Para la realización de este ensayo fueron preparadas soluciones de reactivos, a una concentración de $144 \mu\text{m}/1$, utilizando como solvente y como blanco, tetrahidrofurano (THF) destilado.

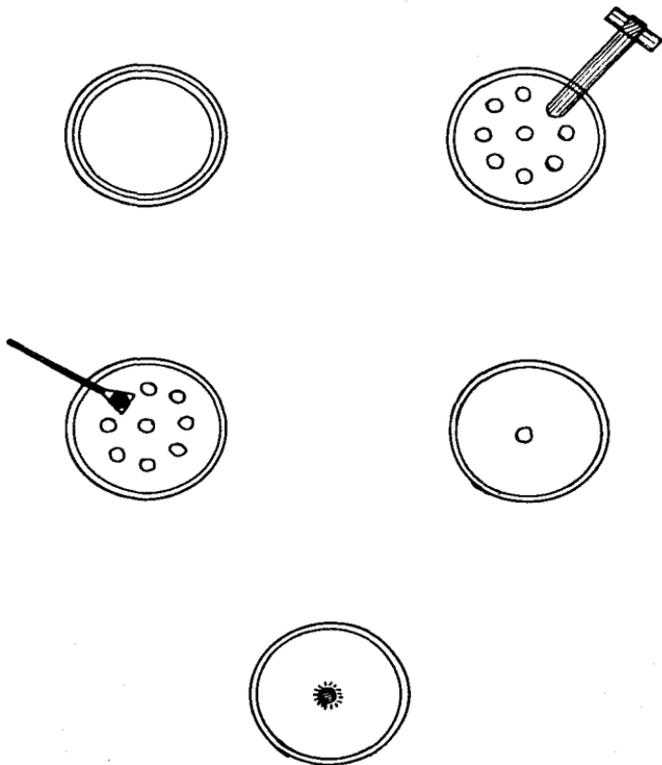
En este ensayo fue utilizado inóculo inicial, cuyo micelio cubría toda la superficie de la caja.

A un matraz Erlenmeyer conteniendo 50 ml de medio de cultivo esterilizado sin solidificar (a una temperatura mayor de 60°C), se le agregó 1 ml del reactivo objeto del ensayo. Esta solución fue agitada vigorosamente para homogeneizarla y entonces fue vaciada a dos cajas Petri, las cuales se dejaron solidificar a temperatura ambiente.

Una vez solidificado el medio con el reactivo objeto del ensayo, las cajas Petri conteniendo el inóculo inicial y el medio de cultivo fueron introducidas a una cámara de cristal con ambiente estéril, en la que previamente fue introducido un horador y una microespátula estériles.

Con el horador, fueron cortados discos del inóculo inicial, y con la microespátula se trasladó un disco a cada una de las cajas Petri preparadas, cuidando que quedara lo más centrado posible (Figura 4).

FIGURA 4. PREPARACION PARA LOS ENSAYOS SEMICUANTITATIVOS Y CUANTITATIVOS.



Una vez terminado el procedimiento por duplicado para cada reactivo, las cajas Petri fueron guardadas en una caja de plástico transparente, previamente desinfectada con alcohol al 70%, e incubadas a temperatura ambiente. Al paso de los días, fue observado y medido diametralmente el crecimiento del micelio, calculando el porcentaje de inhibición que presentaba cada reactivo.

5.7 Ensayo Cuantitativo

Para la realización de este ensayo, fue utilizado, como medio de cultivo PDA al 5%, por la misma razón por la cual se utilizó dicho medio en el ensayo semicuantitativo.

Este ensayo fue realizado con los reactivos que en el ensayo semicuantitativo inhibieron más del 50% del crecimiento diametral del micelio.

El procedimiento para efectuar este ensayo fue igual al seguido en el ensayo descrito en el punto anterior, con la única diferencia que en el presente ensayo, se utilizaron no solo concentraciones de $144 \mu\text{m}/1$, sino cuatro diferentes concentraciones de cada reactivo objeto del ensayo, con el fin de calcular la Dosis Efectiva Media (DE_{50}).

6. RESULTADOS

En el ensayo cualitativo, la expresión de resultados es como sigue:

EXPRESION	DIAMETRO DEL HALO	SIGNIFICADO
-	0 mm	Inhibición negativa.
+	dudoso	Inhibición dudosa.
+	1-3 mm	Inhibición regular.
++	3-7 mm	Inhibición aceptable.
+++	7 mm	Inhibición excelente.

En los ensayos semicuantitativo y cuantitativo, fueron realizadas cuatro mediciones diametrales del crecimiento del micelio en cada una de las cajas Petri utilizadas. De los resultados obtenidos de las cuatro mediciones, fue calculado un promedio. Como ya se mencionó anteriormente, el ensayo semicuantitativo fue realizado por duplicado para cada reactivo, y el ensayo cuantitativo fue realizado por cuadruplicado para cada concentración de reactivo, por lo cual, en ambos casos, fue obtenido un promedio de promedios, por medio del cual fue calculado el Porcentaje de Inhibición de cada uno de los reactivos o concentraciones, por medio de la fórmula:

$$\%I = \frac{a - a_0}{a_0} \times 100$$

en donde:

%I es el Porcentaje de Inhibición.

a_0 es el Promedio de Medición del Crecimiento del Micelio en el Blanco (THF), expresado en mm

a es el Promedio de Medición del Crecimiento del Micelio en el Reactivo o Concentración objeto del ensayo, expresado en mm

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se muestran en las tablas y gráficas que aparecen a continuación.

TABLA 2

PRUEBA CUALITATIVA DE *Coriolus versicolor*

REACTIVOS		ACTIVIDAD
DMF	A	-
	B	-
B15C5	A	+
	B	+
MB15C5	A	+
	B	-
tBuB15C5	A	++
	B	++
B18C6	A	-
	B	-
MB18C5	A	+
	B	+
tBuB18C6	A	++
	B	++
ditBudiB18C6	A	++
	B	++
diB18C6	A	-
	B	-
diCH18C6	A	+++
	B	+++
diB24C8	A	-
	B	-
diCH24C8	A	-
	B	-
Kriptofix 22DD	A	+++
	B	+++

TABLA 3
PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE *Coriolus versicolor*

REACTIVOS		LONGITUD DE MICELIO						% DE INHIBICION
		163 horas		213 horas		259 horas		
THF	A	13.12	15.75	27.25	30.12	39.66	39.66	$\frac{a_o - a}{a_o} \times 100$
	B	18.37		33.00		-		
B15C5	A	13.12	15.25	26.50	28.41	40.00	40.00	4.4 %
	B	17.37	(3.1%)	30.33	(5.6%)	-	-	
MB15C5	A	C	12.87	C	20.50	C	30.75	24 %
	B	12.87	(18.3%)	20.50	(31.9%)	30.75	(22.4%)	
tBuB15C5	A	C	0	C	2.12	C	4.75	94 %
	B	0	(100%)	2.12	(92.9%)	4.75	(88.0%)	
B18C6	A	7.00	9.56	14.25	22.75	24.50	31.00	29 %
	B	12.12	(39.3%)	22.75	(24.5%)	37.50	(21.8%)	
MB18C6	A	7.38	7.38	16.25	16.25	26.00	19.00	50 %
	B	0	(53.1%)	5.62	(46.1%)	12.00	(52.1%)	
tBuB18C6	A	1.25	1.31	3.25	3.62	5.75	5.70	88 %
	B	1.38	(91.7%)	4.00	(87.9%)	5.62	(85.6%)	
ditBudib18C6	A	5.25	5.25	8.75	7.31	11.00	9.87	73 %
	B	C	(66.6%)	5.87	(75.7%)	8.75	(75.1%)	
diB24C8	A	0	0	0	0	0	0	100 %
	B	0	(100 %)	0	(100 %)	0	(100 %)	
diB24C8	A	5.75	5.75	11.75	11.75	18.62	18.62	59 %
	B	C	(63.5%)	C	(60.9%)	C	(53.0%)	
diCH24C8	A	5.80	6.10	10.40	12.10	15.66	17.33	59 %
	B	6.40	(61.3%)	13.80	(59.8%)	19.00	(56.3%)	
Kriptofix 22 DD	A	C	3.50	C	7.50	6.50	8.37	77 %
	B	3.50	(77.8%)	7.50	(75.1%)	10.25	(78.9%)	

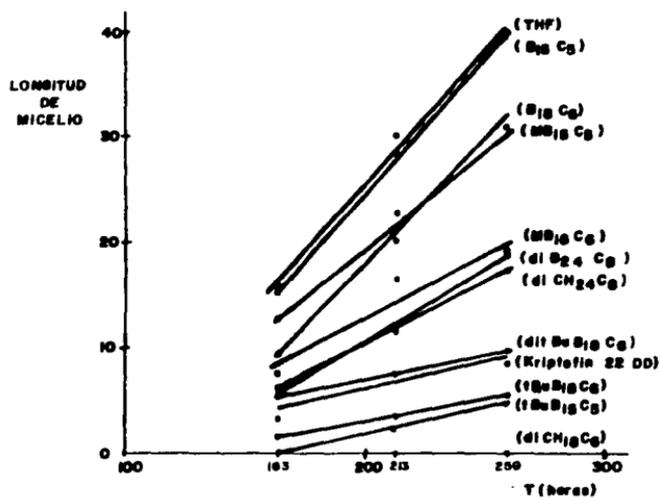
Gráfica 1. PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE *Coriolus versicolor*

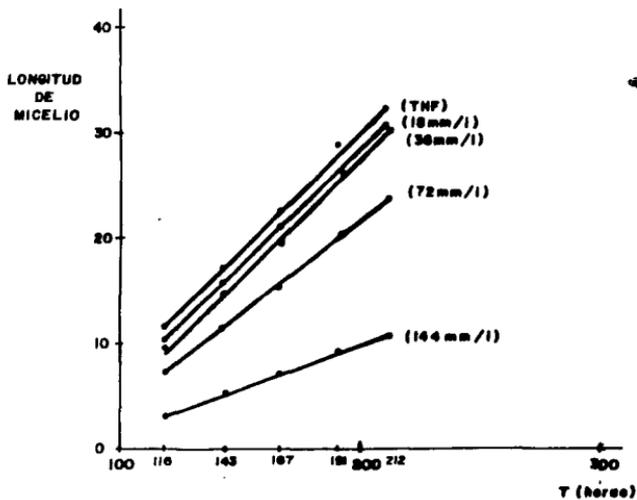
TABLA 4
 DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE tBuB15C5 CONTRA *Coriolus versicolor*.

Concentraciones	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	119 horas	143 horas	167 horas	191 horas	212 horas		
BLANCO (THF)	A	11.9	17.6	23.2	29.7	32.7	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	11.1 $\overline{11.6}$	16.5 $\overline{17.0}$	21.7 $\overline{22.5}$	27.7 $\overline{28.9}$	31.2 $\overline{32.4}$	
	C	10.0	15.0	20.7	27.2	32.0	
	D	13.4	19.0	24.1	31.5	33.7	
18 $\mu\text{m}/1$	A	11.2 $\overline{10.4}$	17.2 $\overline{15.8}$	22.5 $\overline{20.8}$	29.2 $\overline{26.9}$	33.5 $\overline{30.6}$	7.47% 1.16% ^{††}
	B	10.6 (10.5%)	16.1 (7.1%)	21.1 (7.4%)	28.0 (6.8%)	31.7 (5.6%)	
	C	12.0	17.7	23.0 $\overline{22.2}^{\ddagger}$	29.5 $\overline{28.9}^{\ddagger}$	32.7 $\overline{32.7}^{\ddagger}$	
	D	7.6	12.1	16.6 (1.2%) [†]	21.0 (0.0%) [†]	24.5	
36 $\mu\text{m}/1$	A	9.9	14.6	19.5	26.0	30.5	10.93% 9.23% ^{††}
	B	9.6 $\overline{9.9}$	15.2 $\overline{14.9}$	20.5 $\overline{19.9}$	27.0 $\overline{26.2}$	30.7 $\overline{30.1}$	
	C	10.9 (14.5%)	16.2 (12.4%)	21.5 (11.1%)	27.7 (9.2%)	31.5 (7.3%)	
	D	9.2	13.5	18.4	24.2	27.5	
72 $\mu\text{m}/1$	A	7.9 $\overline{7.3}$	11.9 $\overline{11.5}$	15.6 $\overline{15.2}$	20.7 $\overline{20.4}$	24.5 $\overline{23.8}$	31.57% 25.93% ^{††}
	B	8.4 (37.0%)	13.1 (32.3%)	17.1 (32.4%)	20.4 (29.6%)	25.7 (26.6%)	
	C	7.6	11.9	15.7 $\overline{16.2}^{\ddagger}$	21.1 $\overline{21.4}^{\ddagger}$	24.2	
	D	5.3	9.2	12.2 (28.0%) [†]	17.2 (25.9%) [†]	20.7	
144 $\mu\text{m}/1$	A	3.2	5.2	6.7	9.1	10.7	68.74% 67.57% ^{††}
	B	3.5 $\overline{3.2}$	5.4 $\overline{5.3}$	6.0 $\overline{6.7}$	9.1 $\overline{9.4}$	11.0 $\overline{11.3}$	
	C	3.1 (72.0%)	5.1 (69.0%)	6.1 (70.2%)	9.1 (67.5%)	11.0 (65.0%)	
	D	3.2	5.4	7.3	10.2	12.6	

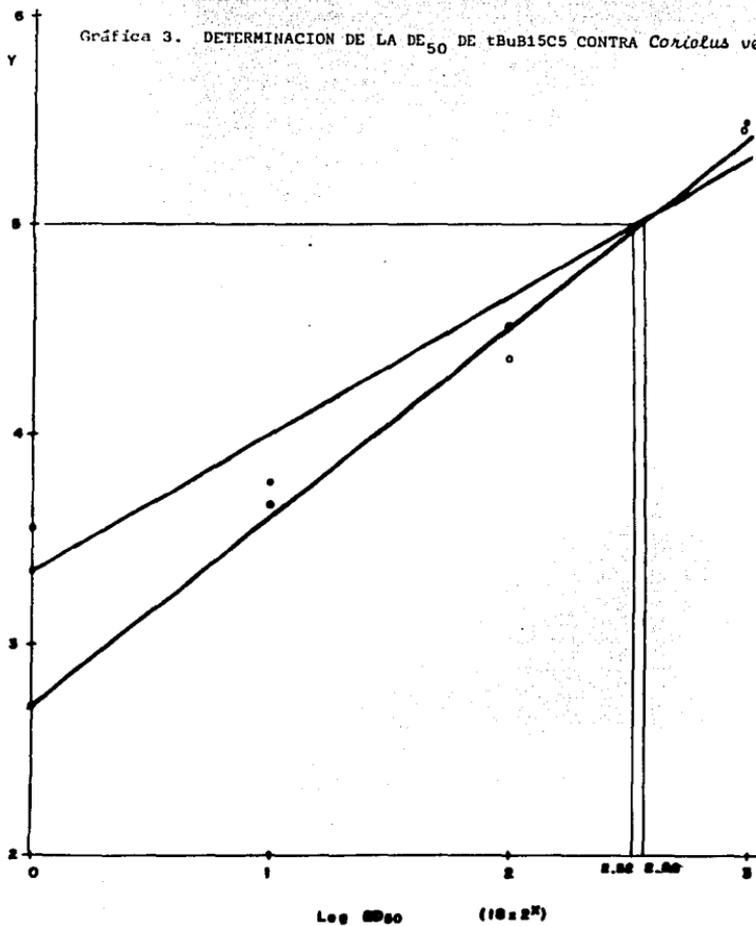
* Promedio y Porcentaje de Inhibición eliminando el último dato.

* * Promedio de Porcentaje de Inhibición tomando solo los tres últimos datos.

Gráfica 2. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Coriolus versicolor con tBuB15C5



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 3. DETERMINACION DE LA ED_{50} DE tBuB15C5 CONTRA *Coriolum versicolor*

- $ED_{50} = 10 \times 2^{2.92} = 103.24 \mu\text{m/l}$
- $ED_{50} = 10 \times 2^{2.99} = 106.18 \mu\text{m/l}$

• Todos los datos
o Últimos datos

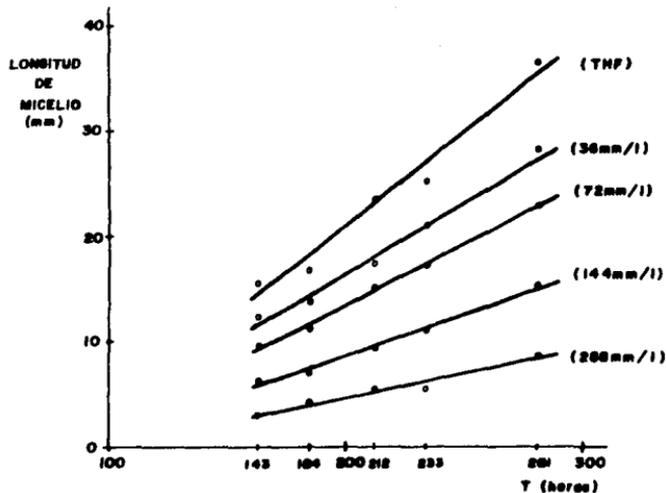
TABLA 5

DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE tBuB18C6 CONTRA *Coriobolus versicolor*.

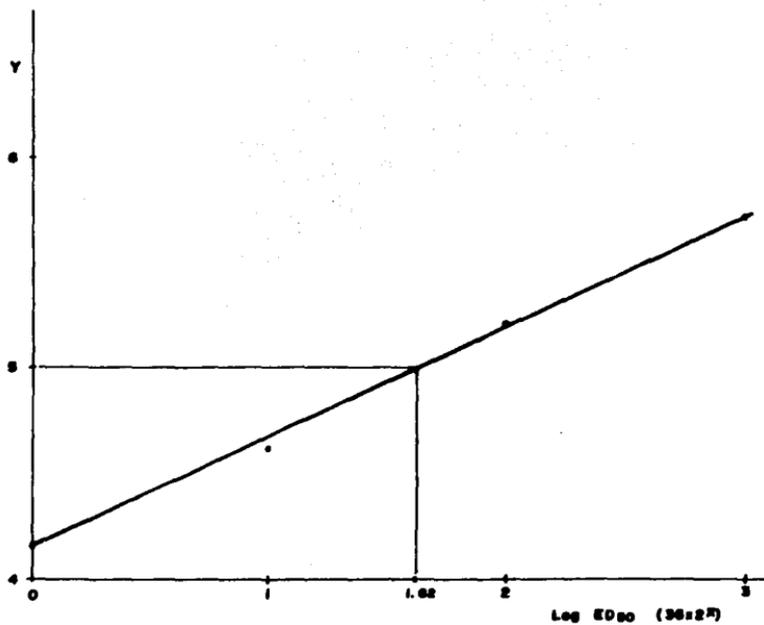
Conc	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	163 horas	184 horas	212 horas	233 horas	281 horas		
BLANCO (THF)	A	-	-	-	-	-	
	B	16.6 $\overline{15.96}$	18.1 $\overline{16.96}$	22.7 $\overline{23.8}$	24.6 $\overline{25.7}$	36.1 $\overline{36.9}$	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	C	18.0	17.5	27.2	28.4	38.2	
	D	13.2	15.2	21.6	24.1	36.2	
36 μ m/l	A	6.6 *	7.7 *	11.0 *	14.2 *	20.7 *	
	B	13.1 $\overline{12.5}$	14.4 $\overline{13.9}$	18.9 $\overline{17.7}$	21.4 $\overline{20.9}$	29.0 $\overline{28.2}$	22%
	C	12.6	13.2	17.6	12.1	28.0	
	D	11.7(21.7%)	14.0(18.2%)	16.6(25.8%)	20.4(18.5%)	27.5(23.6%)	
72 μ m/l	A	9.9	10.9	14.5	16.5	23.2	
	B	11.5 $\overline{9.9}$	13.1 $\overline{11.3}$	17.2 $\overline{15.2}$	19.2 $\overline{17.4}$	23.3 $\overline{23.06}$	35%
	C	11.2	13.0	17.0	18.9	25.7	
	D	7 (37.9%)	8.2(33.3%)	12.0(36.3%)	14.9(32.4%)	20.0(37.5%)	
144 μ m/l	A	6.4	7.0	9.9	11.6	16.0	
	B	7.0 $\overline{6.2}$	7.6 $\overline{7.0}$	10.0 $\overline{9.6}$	12.0 $\overline{11.2}$	- $\overline{15.8}$	59%
	C	6.07	7.0	9.5	10.7	16.2	
	D	5.4(61.09%)	6.4(58.7%)	9.0(59.8%)	10.6(56.2%)	15.1(57.2%)	
288 μ m/l	A	3.3	4.2	6.0	5.9	9.2	
	B	3.4 $\overline{3.2}$	3.7 $\overline{4.2}$	5.7 $\overline{5.7}$	5.7 $\overline{5.8}$	8.9 $\overline{8.97}$	77%
	C	3.1	4.0	5.2	5.6	8.6	
	D	3.1(79.7%)	4.7(75.3%)	6.0(75.9%)	6.0(77.4%)	9.12(75.7%)	

* Los promedios de crecimiento y el % de inhibición se calculan eliminando el 1º dato.

Gráfica 4. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Coriolus versicolor con tBuB18C6



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 5. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE tBuB18C6 contra *Corioliolus versicolor*

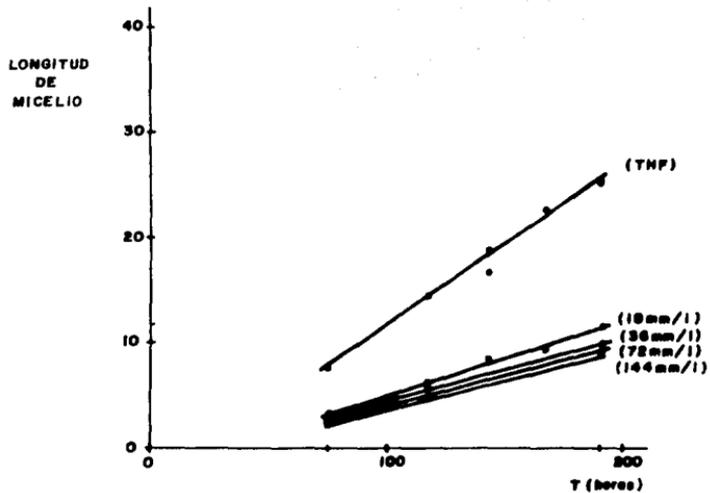
$$ED_{50} = 30 \times 2^{1.62} = 110.888 \mu\text{m/l}$$

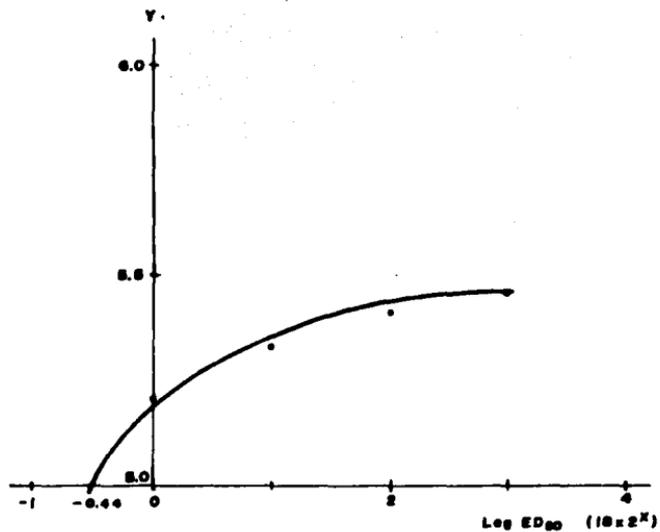
TABLA 6

DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE dich18C6 CONTRA *Coriolus versicolor*.

Conc	Longitud de Micelio				% de Inhibición	
	121 horas	143 horas	169 horas	219 horas		
BLANCO (THF)	A	15.2	20.7	27.7	40.1	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	15.2 $\overline{15.5}$	20.7 $\overline{20.5}$	25.5 $\overline{26.9}$	40.3 $\overline{39.9}$	
	C	17.2	21.5	29.7	-	
	D	14.1	19.0	24.7	38.7	
18 μ m/l	A	12.2	15.6	20.7	32.4	19%
	B	14.7 $\overline{12.7}$	18.4 $\overline{16.1}$	24.0 $\overline{21.3}$	35.7 $\overline{33.1}$	
	C	11.9	14.5	20.0	31.7	
	D	12.1(17.6%)	16.0(21.3%)	20.5(20.9%)	32.6(16.96%)	
36 μ m/l	A	12.0	15.2	20.0	30.7	27%
	B	11.7 $\overline{11.5}$	15.6 $\overline{14.8}$	19.4 $\overline{19.3}$	30.2 $\overline{29.9}$	
	C	11.9	14.9	19.5	30.6	
	D	10.4(25.7%)	13.5(27.7%)	18.0(28.7%)	28.1(24.9%)	
72 μ m/l	A	8.6	10.0	12.5	19.0	55%
	B	8.0 $\overline{7.4}$	9.5 $\overline{8.9}$	12.0 $\overline{11.4}$	19.1 $\overline{18.03}$	
	C	6.0	7.2	9.6	16.1	
	D	7.1(51.9%)	9.0(56.4%)	11.5(57.6%)	17.9(54.8%)	
144 μ m/l	A	1.1	2.1	4.0	6.3	86%
	B	2.2 $\overline{1.6}$	2.7 $\overline{2.7}$	4.0 $\overline{4.0}$	7.0 $\overline{6.7}$	
	C	1.2(89.7%)	2.5(86.7%)	- (85.1%)	- (83.3%)	
	D	1.7	3.5	-	-	

Gráfica 5. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Coriolus versicolor con diCH18C6



Gráfica 7. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE dICH18C6 CONTRA *Coniolum versicolor*

$$ED_{50} = 10 \times 2^{-0.44} = 13.27 \mu\text{m/l}$$

TABLA 7
 DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE ditBudib18C6 CONTRA *Coriolus versicolor*.

Conc	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	75 horas	117 horas	143 horas	166 horas	190 horas		
BLANCO (THF)	A	8.2	15.5	19.2	23.2	26.0	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	7.7 $\overline{7.8}$	14.2 $\overline{14.4}$	18.5 $\overline{18.6}$	23.0 $\overline{22.6}$	25.5 $\overline{25.2}$	
	C	8.0	14.2	18.5	22.5	25.0	
	D	7.2	13.5	18.0	21.5	24.5	
18 μ m/l	A	2.5	5.5	8.2	9.0	11.0	57%
	B	3.2 $\overline{3.0}$	6.7 $\overline{6.2}$	8.2 $\overline{8.2}$	10.0 $\overline{9.4}$	12.0 $\overline{11.4}$	
	C	3.5	7.0	8.2	9.5	12.0	
	D	2.7(61.6%)	5.5(56.9%)	8.0(55.9%)	9.2(58.2%)	10.7(54.7%)	
36 μ m/l	A	2.2	6.0	6.5	9.0	10.2	63%
	B	3.0 $\overline{2.6}$	6.0 $\overline{5.7}$	7.0 $\overline{6.8}$	8.0 $\overline{8.2}$	9.7 $\overline{9.9}$	
	C	3.0	6.0	7.0	7.7	10.0	
	D	2.0(67.2%)	5.0(60.0%)	6.7(63.3%)	8.0(63.7%)	9.5(60.9%)	
72 μ m/l	A	3.0	5.5	6.5	7.5	9.0	66%
	B	2.2 $\overline{2.4}$	5.5 $\overline{5.2}$	6.2 $\overline{6.2}$	7.7 $\overline{7.5}$	9.5 $\overline{9.1}$	
	C	2.2	5.7	6.0	7.5	9.0	
	D	2.0(69.6%)	4.2(63.5%)	6.2(66.3%)	7.2(66.8%)	9.0(63.9%)	
144 μ m/l	A	1.9	4.5	6.0	7.0	8.7	68%
	B	2.1 $\overline{2.1}$	5.0 $\overline{5.06}$	6.0 $\overline{6.1}$	7.2 $\overline{7.2}$	8.7 $\overline{8.7}$	
	C	2.5	5.5	6.5	7.1	8.5	
	D	2.0(72.8%)	5.2(64.8%)	6.0(67.0%)	7.2(68.3%)	9.0(65.3%)	

Gráfica 8. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Coriolus versicolor con ditBudib18C6

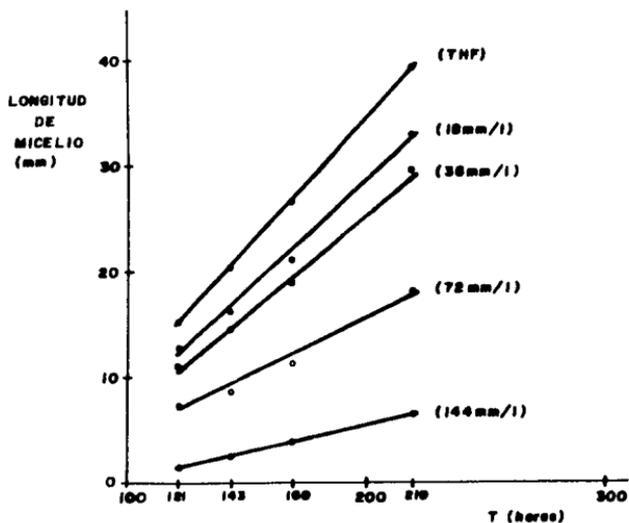
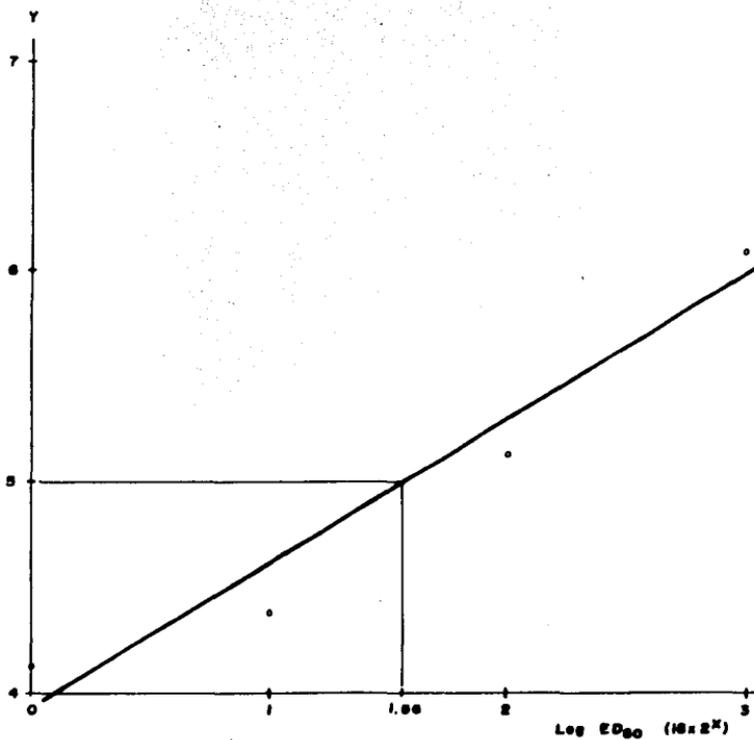


Gráfico 9. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE ditBudib18C6 CONTRA *Coniolum versicolor*

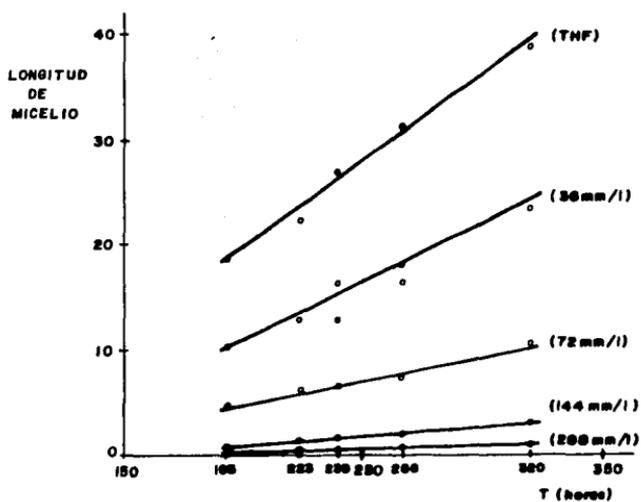
$$ED_{50} = 10 \times 2^{1.00} = 20 \text{ } \mu\text{m/l}$$

TABLA 8

DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE Kriptofix 22 DD contra *Coriolus versicolor*.

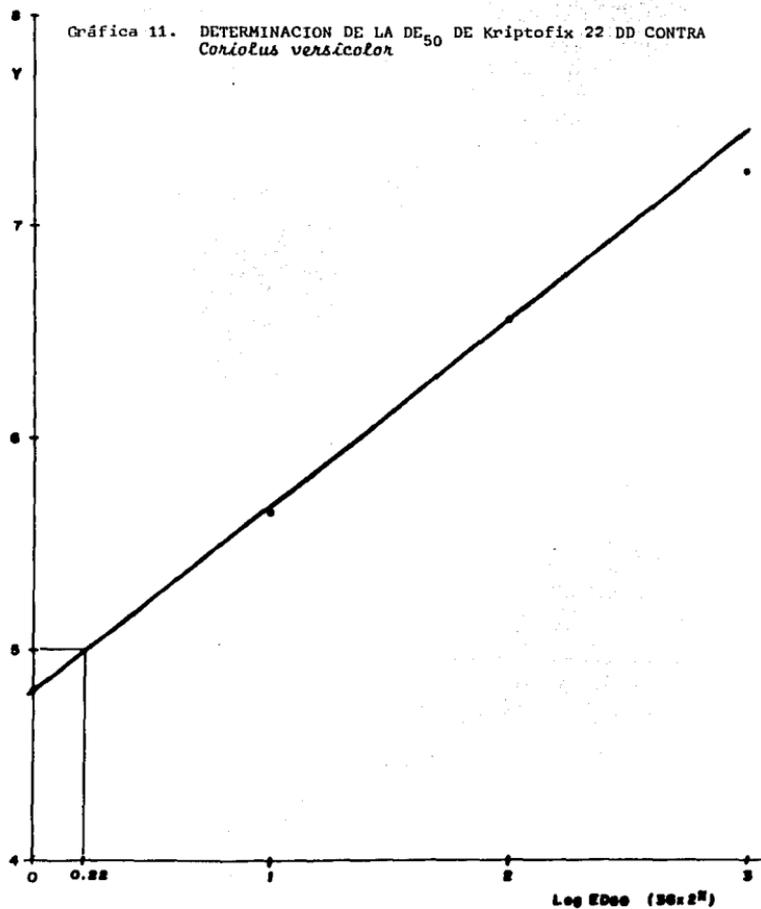
Concentraciones	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	193 horas	223 horas	239 horas	266 horas	320 horas		
BLANCO (THF)	A	19.5	25.7	29.5	34.5	41.7	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	20.7 <u>18.3</u>	26.7 <u>22.0</u>	27.7 <u>27.1</u>	- <u>31.6</u>	- <u>39.0</u>	
	C	17.0	18.0	27.5	31.7	38.7	
	D	16.0	17.5	23.5	28.5	36.5	
36 μ m/l	A	10.0	12.0	17.0	19.0	24.0	41 %
	B	10.0 <u>10.4</u>	13.0 <u>12.7</u>	16.5 <u>16.2</u>	19.2 <u>19.1</u>	22.5 <u>23.6</u>	
	C	10.5 (43.3%)	13.0 (42.0%)	16.5 (89.9%)	18.0 (39.6%)	24.0 (39.4%)	
	D	11.0	13.0	15.0	20.0	24.0	
72 μ m/l	A	4.9	5.9	6.2	7.0	10.2	74%
	B	5.0 <u>4.9</u>	6.2 <u>6.0</u>	6.5 <u>6.3</u>	7.5 <u>7.5</u>	11.0 <u>10.6</u>	
	C	5.0 (73.4%)	6.0 (72.6%)	6.0 (76.7%)	7.0 (76.2%)	10.0 (72.8%)	
	D	4.6	6.0	6.5	8.5	11.2	
144 μ m/l	A	1.0	1.2	1.5	2.0	3.2	94%
	B	0.5 <u>0.8</u>	1.0 <u>1.3</u>	1.5 <u>1.6</u>	1.6 <u>2.0</u>	2.4 <u>3.1</u>	
	C	1.0 (95.6%)	1.6 (93.9%)	2.0 (94.0%)	2.2 (93.8%)	3.5 (92.1%)	
	D	0.7	1.5	1.5	2.0	3.2	
288 μ m/l	A	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	99%
	B	0.5 <u>0.1</u>	0.0 <u>0.2</u>	0.0 <u>0.2</u>	0.0 <u>0.5</u>	0.0 <u>0.6</u>	
	C	0.5 (99.3%)	0.9 (99.0%)	1.2 (98.7%)	1.7 (98.5%)	2.2 (98.4%)	
	D	0.0	0.0	0.1	0.1	0.2	

Gráfica 10. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Coriolus versicolor con Kriptofix 22 DD



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Gráfica 11. DETERMINACION DE LA ED_{50} DE Kriptofix 22 DD CONTRA *Coniolum versicolor*



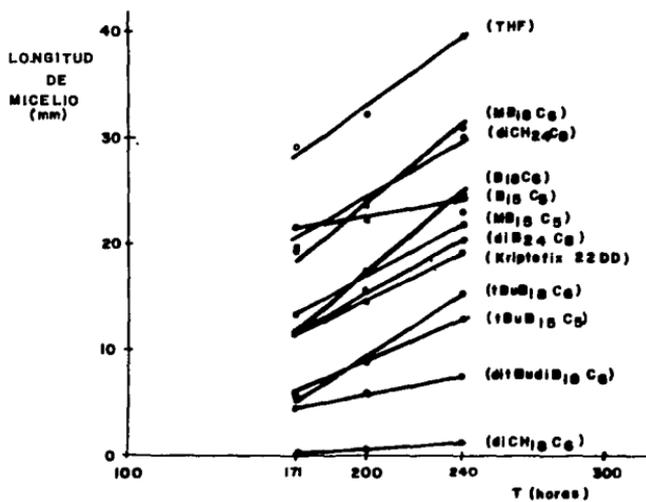
$$ED_{50} = 36 \times 2^{0.22} = 41.93 \text{ ppm/l}$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 9
PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE *Tyromyces palustris*

Reactivos	Longitud de Micelio				% de Inhibición	
	171 horas	200 horas	240 horas	308 horas		
THF	A	28.7 $\overline{29.2}$	31.7 $\overline{32.0}$	40.0 $\overline{40.0}$	40.7 $\overline{40.9}$	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	29.7	32.3	40.0	41.0	
B15C5	A	25.3 $\overline{19.8}$	30.3 $\overline{24.2}$	- $\overline{23.1}$	- $\overline{30.7}$	33%
	B	14.2(32.2%)	18.0(24.6%)	23.1(42.2%)	30.7(24.8%)	
MB15C5	A	14.2 $\overline{13.0}$	18.7 $\overline{17.2}$	27.5 $\overline{22.0}$	37.2 $\overline{32.8}$	49%
	B	11.7(55.4%)	15.7(46.2%)	16.5(45.0%)	28.4(19.7%)	
tBuB15C5	A	6.0 $\overline{5.6}$	9.5 $\overline{8.9}$	13.5 $\overline{12.9}$	21.2 $\overline{21.2}$	74%
	B	5.2(80.7%)	8.2(72.3%)	12.2(67.8%)	21.2(48.0%)	
B18C6	A	14.0 $\overline{13.2}$	15.7 $\overline{15.9}$	26.7 $\overline{24.4}$	36.0 $\overline{32.6}$	48%
	B	12.5(54.6%)	16.0(50.4%)	22.0(39.1%)	29.2(20.2%)	
MB18C6	A	19.6 $\overline{18.7}$	22.3 $\overline{22.2}$	31.0 $\overline{31.0}$	32.0 $\overline{31.9}$	30%
	B	17.8(35.96%)	22.2(30.6%)	31.0(22.5%)	31.8(21.9%)	
tBuB18C6	A	7.0 $\overline{5.9}$	10.7 $\overline{8.6}$	17.7 $\overline{15.2}$	27.0 $\overline{23.7}$	72%
	B	4.7(79.9%)	6.5(73.1%)	12.7(61.9%)	20.5(41.9%)	
ditBuB18C6	A	4.0 $\overline{4.4}$	6.0 $\overline{6.0}$	7.6 $\overline{7.9}$	10.5 $\overline{10.9}$	82%
	B	4.7(85.0%)	6.0(81.3%)	8.1(80.3%)	11.4(73.2%)	
diCh18C6	A	0 $\overline{0}$	0 $\overline{0}$	0 $\overline{1.2}$	4.0 $\overline{3.1}$	99%
	B	0 (100%)	0 (100%)	2.5(96.9%)	2.2(92.3%)	
diB24C8	A	13.2 $\overline{11.9}$	16.7 $\overline{14.6}$	23.0 $\overline{20.2}$	31.5 $\overline{28.3}$	48%
	B	10.5(59.3%)	12.5(54.3%)	17.5(49.4%)	25.1(30.7%)	
diCh24C8	A	20.2 $\overline{21.4}$	24.2 $\overline{23.96}$	30.4 $\overline{30.0}$	32.2 $\overline{31.2}$	38%
	B	22.6(26.6%)	23.7(25.2%)	29.6(24.9%)	30.2(23.6%)	
Kriptofix 22 DD	A	11.0 $\overline{11.7}$	13.5 $\overline{14.5}$	18.5 $\overline{19.2}$	25.2 $\overline{26.0}$	55%
	B	12.5(59.7%)	15.5(54.7%)	20.0(51.9%)	26.7(36.4%)	

NOTA: El promedio de % de Inhibición se calculo eliminando el % de Inhibición de las 308 horas, debido a la saturación de la caja Petri en el blanco, lo cual evitaba un libre crecimiento del hongo.

Gráfica 12. PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE *Tyromyces palustris*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

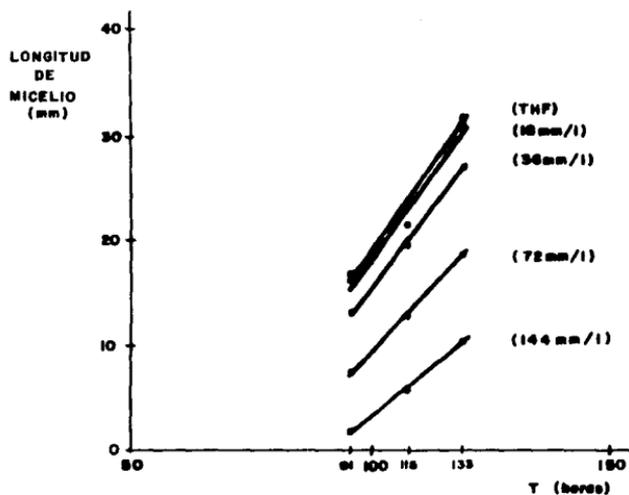
TABLA 10

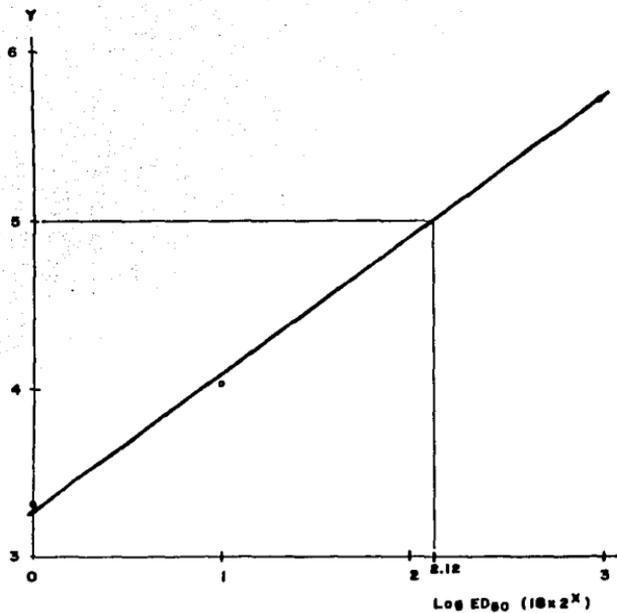
DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE tBuB15C5 contra *Tyromyces palustris*.

Concentraciones		Longitud de Micelio			% de Inhibición
		91 horas	115 horas	138 horas	
BLANCO (THF)	A	15.0	21.7	30.0	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	17.3 <u>16.7</u>	24.0 <u>23.0</u>	33.1 <u>31.9</u>	
	C	17.7	23.4	32.6	
	D	11.1	16.7	25.5	
18 μ m/l	A	15.8	21.1	32.1	4.6 %
	B	14.7 <u>16.0</u>	18.9 <u>21.3</u>	29.0 <u>31.2</u>	
	C	16.7 (4.07%)	22.5 (7.5%)	32.0 (2.2%)	
	D	16.7	22.7	31.7	
36 μ m/l	A	8.4	13.7	20.0	16 %
	B	14.7 <u>13.4</u>	20.7 <u>19.7</u>	28.2 <u>27.1</u>	
	C	12.6 (19.9%)	18.7 (14.3%)	25.7 (15.2%)	
	D	12.7	19.7	27.2	
72 μ m/l	A	8.4	13.0	19.5	46 %
	B	8.2 <u>7.7</u>	13.5 <u>12.9</u>	19.5 <u>18.7</u>	
	C	8.0 (53.8%)	12.5 (44.1%)	18.2 (41.3%)	
	D	6.25	12.5	17.7	
144 μ m/l	A	2.0	6.0	11.5	77 %
	B	2.0 <u>2.0</u>	7.5 <u>5.9</u>	11.1 <u>10.4</u>	
	C	2.0 (88.0%)	5.7 (74.2%)	10.0 (67.3%)	
	D	2.0	4.5	9.1	

* Promedio de % de Inhibición con 2 últimos datos.

Gráfica 13. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Tyromyces palustris con tBuB15C5



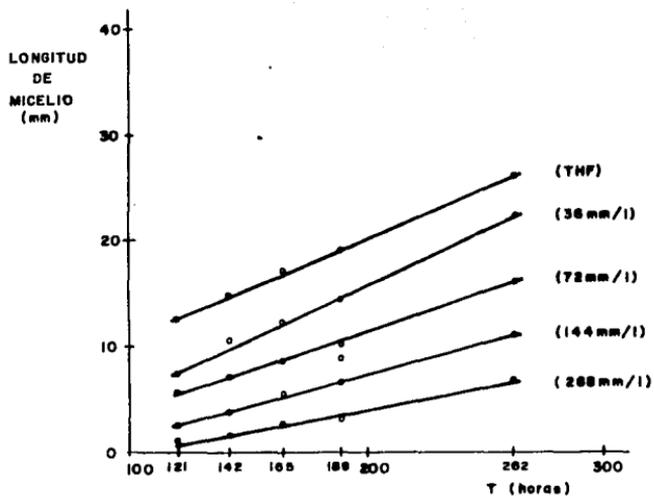
Gráfica 14. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE tBuB15C5 CONTRA *Tyromyces palustris*

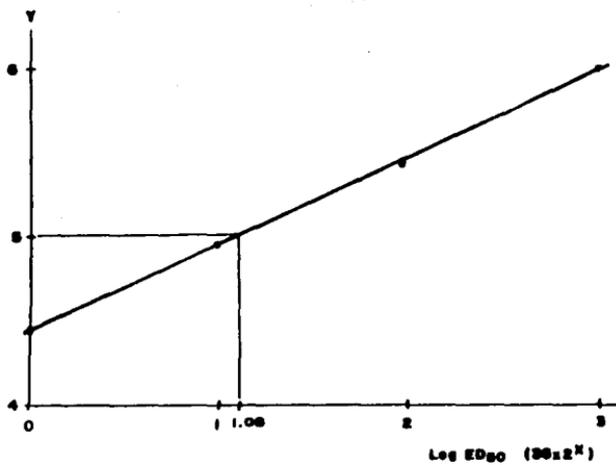
$$ED_{50} = 10 \times 2^{2.12} = 78.24 \mu\text{m/l}$$

TABLA 11
 DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE tBuB18C6 CONTRA *Tyromyces palustris*.

Concentraciones	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	121 horas	142 horas	165 horas	189 horas	262 horas		
BLANCO (THF)	A	13.1	16.4	17.7	20.0	25.7	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	12.0 $\overline{12.6}$	14.7 $\overline{14.9}$	18.2 $\overline{17.2}$	20.0 $\overline{19.3}$	28.5 $\overline{26.1}$	
	C	13.7	15.4	17.7	19.5	26.5	
	D	11.5	13.2	15.2	17.7	23.5	
36 μ m/l	A	5.0	6.5	6.7	7.7	12.7	29 %
	B	9.2 $\overline{7.7}$	11.0 $\overline{10.3}$	12.7 $\overline{12.1}$	14.7 $\overline{14.2}$	21.7 $\overline{21.2}$	
	C	8.7 (38.4%)	11.0 (30.9%)	12.5 (30.0%)	14.5 (26.2%)	22.0 (18.5%)	
	D	8.0	9.5	11.0	13.5	20.0	
72 μ m/l	A	5.7	7.2	9.0	9.2	15.7	48 %
	B	4.7 $\overline{5.8}$	5.7 $\overline{7.1}$	7.2 $\overline{8.9}$	8.7 $\overline{10.1}$	14.5 $\overline{16.2}$	
	C	6.2 (53.9%)	7.2 (52.3%)	9.2 (48.2%)	10.7 (47.9%)	17.5 (37.9%)	
	D	6.5	8.2	10.2	11.5	17.0	
144 μ m/l	A	26.2	3.6	5.5	6.2	11.0	68 %
	B	3.2 $\overline{2.9}$	4.1 $\overline{3.9}$	6.2 $\overline{5.6}$	7.2 $\overline{6.6}$	12.2 $\overline{11.2}$	
	C	3.0 (76.9%)	4.2 (73.6%)	5.2 (67.4%)	6.5 (66.0%)	11.2 (56.8%)	
	D	2.7	3.7	5.5	6.2	10.5	
288 μ m/l	A	1.0	1.7	2.5	3.2	7.2	85 %
	B	0.9 $\overline{1.0}$	1.2 $\overline{1.6}$	1.7 $\overline{2.4}$	2.5 $\overline{3.2}$	6.2 $\overline{6.7}$	
	C	1.1 (92.1%)	2.0 (89.1%)	3.4 (85.8%)	4.0 (83.5%)	7.5 (74.1%)	
	D	1.0	1.5	2.1	3.0	6.0	

Gráfica 15. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Tyromyces palustris con tBuB18C6



Gráfica 16. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE tBuB18C6 CONTRA *Tyromyces palustris*

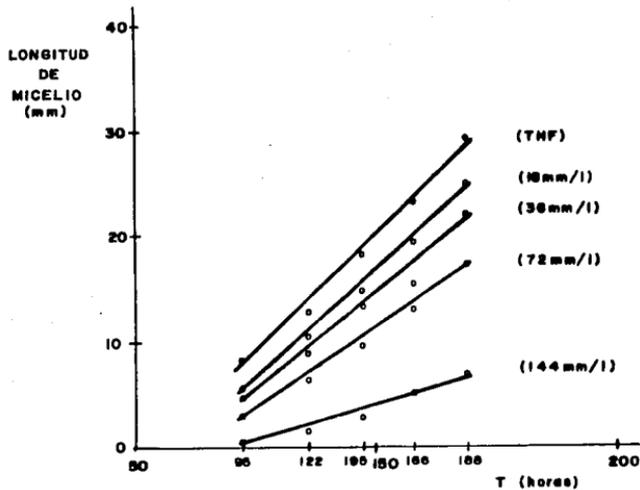
$$ED_{50} = 36 \times 2^{1.00} = 72.10 \mu\text{m/l}$$

TABLA 12

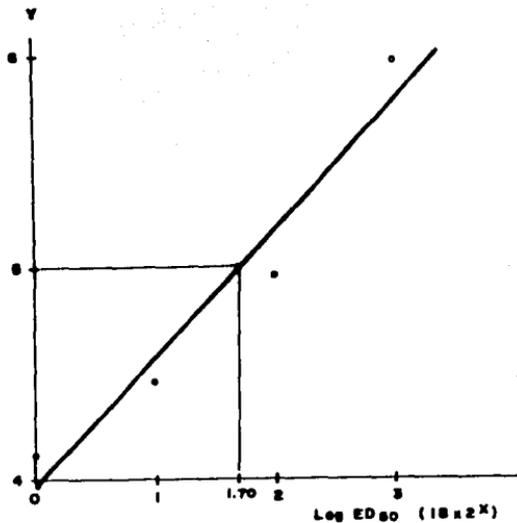
DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE DICHL8C6 CONTRA *Tyromyces palustris*.

Concentraciones		Longitud de Micelio					% de Inhibición
		95 horas	122 horas	145 horas	166 horas	188 horas	
BLANCO (THF)	A	8.2	13.5	18.0	22.7	29.0	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	5.5 <u>0.1</u>	11.2 <u>12.9</u>	17.5 <u>18.0</u>	23.5 <u>23.5</u>	29.2 <u>29.5</u>	
	C	8.7	12.7	17.0	22.7	28.5	
	D	10.0	14.0	19.6	25.0	31.2	
18 $\mu\text{m}/\text{l}$	A	6.5	10.7	15.5	20.5	26.2	19 %
	B	6.4 <u>5.8</u>	10.0 <u>10.4</u>	15.1 <u>14.9</u>	19.4 <u>19.7</u>	24.5 <u>25.5</u>	
	C	5.0 (28.1%)	10.7 (19.4%)	15.0 (17.5%)	19.7 (16.3%)	25.7 (14.4%)	
	D	5.5	10.0	13.9	19.0	24.5	
36 $\mu\text{m}/\text{l}$	A	5.0	9.2	13.2	14.0	23.5	31 %
	B	4.5 <u>4.9</u>	8.2 <u>8.9</u>	12.6 <u>13.0</u>	13.5 <u>15.5</u>	21.2 <u>22.1</u>	
	C	5.2 (39.6%)	9.7 (30.6%)	12.7 (27.7%)	15.6 (33.9%)	20.2 (25.0%)	
	D	4.9	8.5	13.5	19.0	23.5	
72 $\mu\text{m}/\text{l}$	A	2.1	5.6	8.5	11.7	16.0	49 %
	B	3.7 <u>3.0</u>	6.5 <u>6.5</u>	10.0 <u>9.6</u>	13.5 <u>13.1</u>	19.2 <u>17.8</u>	
	C	4.1 (62.7%)	7.2 (49.7%)	10.7 (47.0%)	14.5 (44.3%)	19.5 (39.4%)	
	D	2.1	6.5	9.0	12.6	16.5	
144 $\mu\text{m}/\text{l}$	A	0.5	2.1	3.6	5.5	7.4	84 %
	B	0.5 <u>0.5</u>	1.0 <u>1.6</u>	2.2 <u>3.0</u>	4.2 <u>5.1</u>	6.0 <u>7.0</u>	
	C	0.0 (93.9%)	0.4 (87.9%)	1.7 (83.5%)	4.7 (78.3%)	6.2 (76.4%)	
	D	1.0	2.7	4.2	5.9	8.2	

Gráfica 17. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Tyromyces palustris con dichloro



Gráfica 18. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE DICHLORC6 CONTRA *Tyromyces palustris*

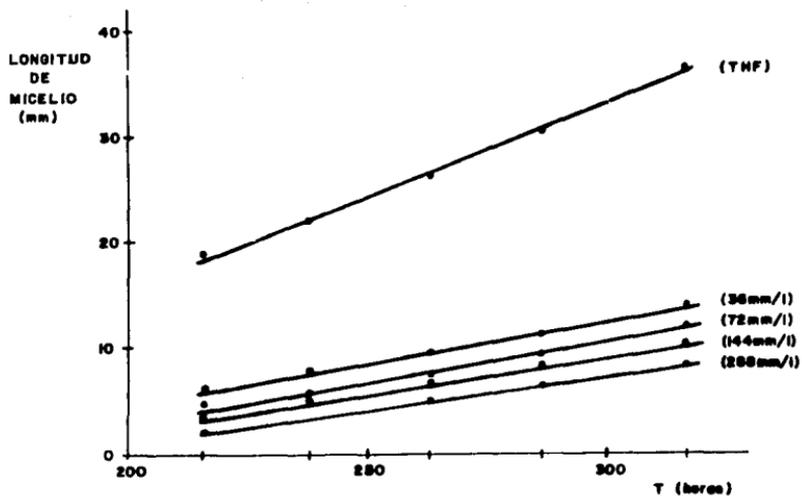


$$ED_{50} = 18 \times 2^{1.70} = 98.48 \mu\text{m/l}$$

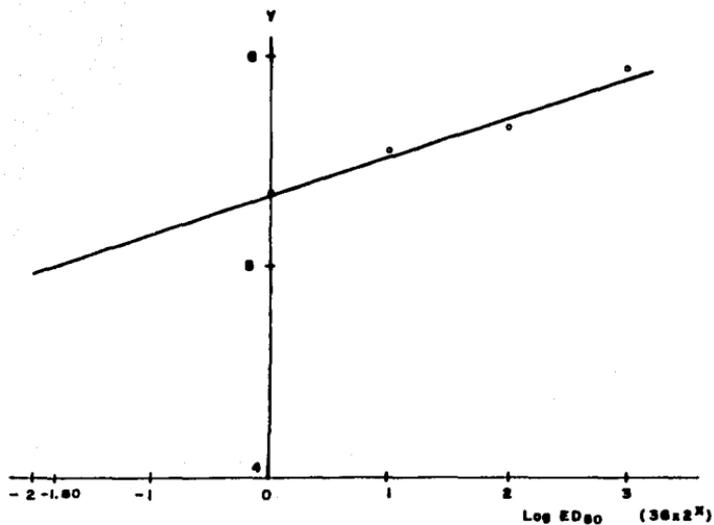
TABLA 13
 DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE ditBudib18C6 CONTRA *Tyromyces palustris*.

Conc	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	216 horas	238 horas	263 horas	287 horas	317 horas		
BLANCO (THF)	A	18.2	21.7	25.2	29.0	34.0	$\frac{a_o - a}{a_o} \times 100$
	B	18.2 <u>18.8</u>	22.0 <u>22.06</u>	26.2 <u>26.4</u>	30.7 <u>30.7</u>	36.0 <u>36.7</u>	
	C	19.2	22.5	26.6	31.2	36.7	
	D	19.5	22.0	27.4	31.7	39.7	
36 μ m/l	A	6.5	8.2	9.5	11.5	13.7	63%
	B	6.7 <u>6.4</u>	8.2 <u>7.8</u>	10.7 <u>9.7</u>	13.2 <u>11.6</u>	15.7 <u>14.1</u>	
	C	6.5	8.2	10.4	11.5	14.2	
	D	5.7(66.1%)	6.5(64.6%)	8.2(63.1%)	10.2(62.1%)	12.7(61.4%)	
72 μ m/l	A	5.0	6.2	7.5	9.0	12.2	71%
	B	4.5 <u>4.6</u>	5.7 <u>5.8</u>	8.2 <u>7.7</u>	9.7 <u>9.4</u>	12.7 <u>12.1</u>	
	C	4.5	5.2	7.5	9.0	11.7	
	D	4.5(75.4%)	6.1(73.5%)	7.7(70.6%)	9.7(69.4%)	11.7(66.9%)	
144 μ m/l	A	4.2	5.5	6.2	8.0	10.7	75%
	B	2.5 <u>3.97</u>	4.5 <u>5.4</u>	5.7 <u>6.7</u>	8.1 <u>8.4</u>	9.7 <u>10.5</u>	
	C	4.9	6.1	8.0	8.9	11.0	
	D	4.2(78.9%)	5.4(75.6%)	7.0(74.4%)	8.5(72.7%)	10.5(71.3%)	
288 μ m/l	A	3.6	4.2	5.7	7.1	9.5	83%
	B	1.5 <u>2.0</u>	2.7 <u>3.06</u>	4.6 <u>4.8</u>	5.7 <u>6.2</u>	8.5 <u>8.5</u>	
	C	1.5	3.1	4.7	6.2	8.2	
	D	1.5(89.2%)	2.1(86.1%)	4.2(81.6%)	5.7(79.7%)	7.7(76.8%)	

Gráfica 19. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Tyromyces palustris con ditBud18C6



Gráfica 10. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE di-Budibisoc6 CONTRA *Typhomyces palustris*



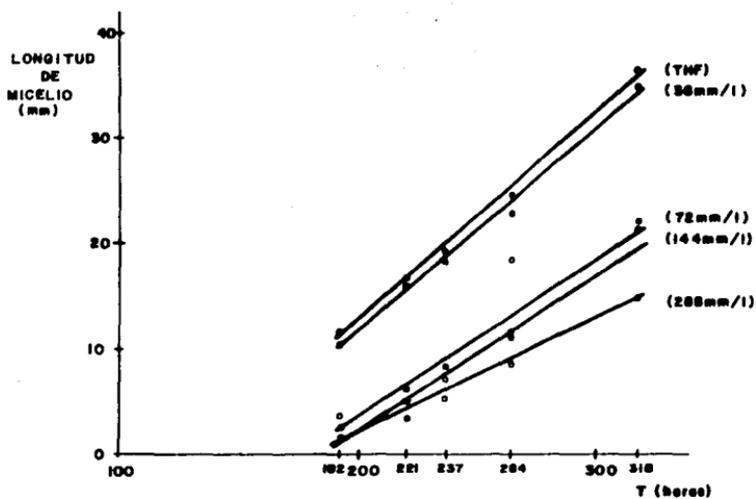
$$ED_{50} = 36 \times 2^{-1.50} = 10.34 \mu\text{m/l}$$

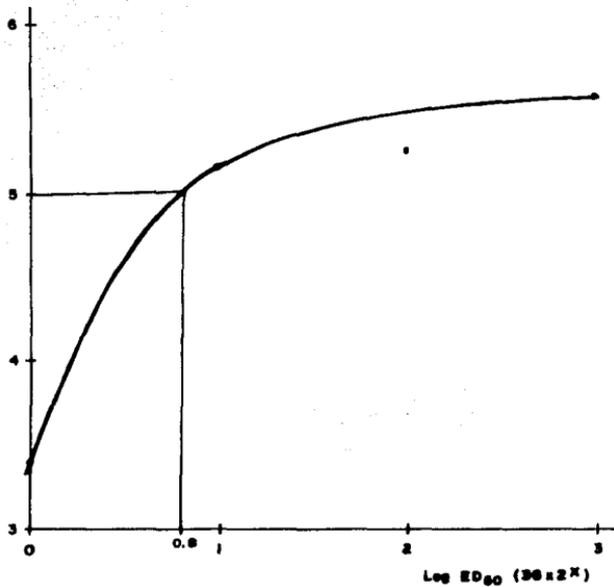
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 14
 DETERMINACION DE LA DE_{50} DE Kriptofix 22 DD CONTRA *lyromyces palustris*.

Conc	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	192 horas	221 horas	237 horas	264 horas	318 horas		
BLANCO (THF)	A	11.2	16.4	19.5	25.0	37.7	$\frac{a_o - a}{a_o} \times 100$
	B	12.0 $\overline{11.6}$	16.2 $\overline{16.7}$	19.2 $\overline{19.2}$	25.7 $\overline{24.6}$	38.7 $\overline{36.9}$	
	C	10.7	15.7	18.0	23.2	36.0	
	D	12.2	18.2	20.0	24.2	35.2	
36 μ m/1	A	13.0	19.0	21.5	26.7	39.5	5.4%
	B	11.2 $\overline{10.6}$	17.2 $\overline{16.1}$	19.0 $\overline{18.4}$	23.7 $\overline{23.06}$	34.7 $\overline{35.06}$	
	C	11.0	16.5	19.0	23.0	37.5	
	D	7.2(8.09%)	11.7(3.2%)	14.0(4.2%)	18.7(6.1%)	28.5(5.09%)	
72 μ m/1	A	3.5	7.0	9.2	13.0	24.7	56%
	B	5.7 $\overline{3.8}$	9.2 $\overline{6.06}$	10.7 $\overline{8.06}$	14.2 $\overline{11.7}$	22.5 $\overline{22.1}$	
	C	2.1	4.0	6.5	10.2	21.7	
	D	4.0(66.8%)	4.0(63.6%)	5.7(57.99%)	9.5(52.2%)	19.5(40.1%)	
144 μ m/1	A	3.0	7.2	9.5	13.0	24.2	60%
	B	1.5 $\overline{2.6}$	4.2 $\overline{5.4}$	6.0 $\overline{7.4}$	10.2 $\overline{11.4}$	19.2 $\overline{21.5}$	
	C	3.7	6.7	9.0	13.2	25.0	
	D	2.0(77.8%)	3.5(67.3%)	5.0(61.6%)	9.0(53.7%)	17.5(41.8%)	
288 μ m/1	A	2.0	4.2	6.2	9.2	17.5	71%
	B	2.0 $\overline{1.8}$	3.2 $\overline{3.7}$	5.0 $\overline{5.4}$	9.0 $\overline{8.8}$	12.0 $\overline{15.3}$	
	C	2.2	5.5	6.7	10.0	17.2	
	D	1.0(84.3%)	2.0(77.5%)	3.5(71.99%)	7.0(64.1%)	14.5(58.5%)	

Gráfica 21. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Tyromyces palustris con Kriptofix 22 DD



Gráfica 22. DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE Kriptofix 22 DD CONTRA *Tyromyces palustris*

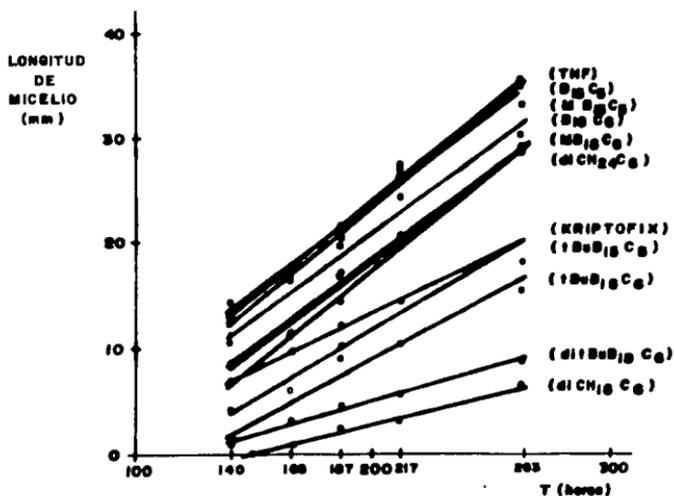
$$ED_{50} = 36 \times 2^{0.9} = 62.68 \mu\text{m/l}$$

TABLA 15
 PRUEBA CUALITATIVA DE *Picnoporus coccineus*.

REACTIVOS		ACTIVIDAD
DIMETILFORMAMIDA (DMF)	A	-
	B	-
B15C5	A	-
	B	-
MB15C5	A	++
	B	++
tBuB15C5	A	+
	B	+
B18C6	A	-
	B	-
MB18C6	A	-
	B	-
tBuB18C6	A	+
	B	+
ditBudib18C6	A	++
	B	++
diB18C6	A	-
	B	-
diCH18C6	A	+++
	B	+++
diB24C8	A	-
	B	+
diCH24C8	A	+
	B	+
KRIPTOFIX 22 DD	A	++
	B	++

TABLA 16
PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE *Risporolius coccineus*.

Reactivos	Longitud de Micelio					% de Inhibición	
	140 horas	166 horas	187 horas	212 horas	263 horas		
THF	A	12.5 12.6	16.0 16.2	20.0 19.9	25.7 27.7	35.7 35.7	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	12.7	16.5	19.7	29.7	35.7	
B15C5	A	12.2 12.6	17.0 17.0	20.2 21.2	26.8 27.3	34.5 35.2	1.0%
	B	13.5(0.08%)	17.1	22.2	27.7(1.6%)	36.0(1.4%)	
MB15C5	A	14.3 14.1	16.3 16.3	21.7 21.6	27.1 26.5	34.0 33.1	5.9%
	B	13.7	16.2	21.5	25.8	32.2	
tBuB15C5	A	4.6 4.4	6.2 6.1	10.1 10.1	14.8 14.3	20.0 19.2	54 %
	B	4.2(65.3%)	6.0(62.3%)	10.1(49.06%)	13.7(48.6%)	18.5(46.1%)	
B18C6	A	10.0 10.1	13.5 13.0	22.2 20.8	24.4 24.1	30.0 30.2	17 %
	B	10.2(19.6%)	12.5(20.0%)	19.2	23.9(13.0%)	30.5(15.4%)	
MB18C6	A	5.5 7.06	11.5 11.9	13.6 14.7	19.7 20.5	31.2 29.6	28 %
	B	8.6(44.01%)	12.2(26.9%)	15.8(26.09%)	21.4(26.05%)	28.0(17.1%)	
tBuB18C6	A	1 1.0	7.0 6.0	8.7 9.06	10.7 10.9	17.7 15.9	65 %
	B	1 (92.07%)	5.0(63.08%)	9.4(54.4%)	11.2(60.7%)	14.0(55.6%)	
ditBu18C6	A	1.4 1.6	3.1 3.1	5.0 4.7	5.6 5.7	9.0 8.9	80 %
	B	1.7(7.6%)	3.1(10.8%)	4.5(76.1%)	5.9(93.3%)	8.7(75.2%)	
dich18C6	A	0 0	0.5 0.7	21.2 2.3	3.5 3.2	6.5 6.7	91 %
	B	0 (100%)	1(95.4%)	2.5(88.4%)	2.9 (88.5%)	7.0(81.1%)	
dih24C8	A	8.4 8.5	10.7 11.7	16.2 16.7	21.5 20.4	30.0 29.9	24 %
	B	8.6(32.6%)	12.6(28.06%)	17.1(17.5%)	19.4(26.3%)	29.7(164%)	
dich24C8	A	10.1 10.1	11.9 11.9	17.2 17.2	20.5 20.5	27.7 27.7	22 %
	B	C. (19.7%)	C. (26.9%)	C. (13.2%)	C. (26.1%)	C. (22.4%)	
Kns; tofix v. D.	A	7.2 7.3	9.6 9.9	9.7 10.6	15.6 16.2	21.0 21.5	42 %
	B	7.4(42.01%)	10.0(39.6%)	11.4(46.9%)	16.8(41.6%)	22.0(39.9%)	

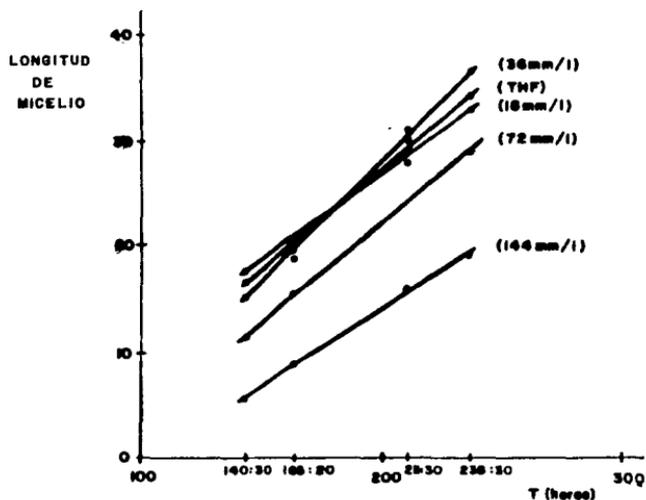
Gráfica 23. PRUEBA SEMICUANTITATIVA DE *Picnoporus coccineus*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

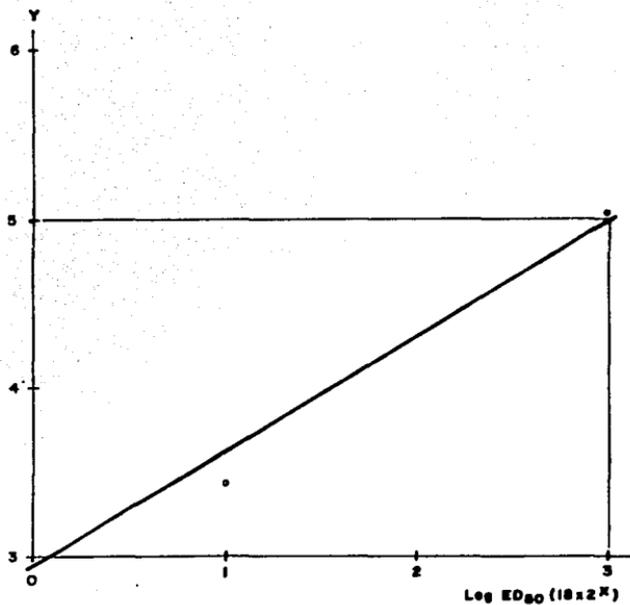
TABLA 17
 DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE tBuB15C5 CONTRA *Picnopus coccineus*.

Concentraciones	Longitud de Micelio				% de Inhibición	
	140 horas	165 horas	211 horas	238 horas		
BLANCO (THF)	A	15.8	-	-	-	$\frac{a_0 - a}{a_0} \times 100$
	B	17.7 16.3	20.1 19.6	29.9 29.4	36.0 34.5	
	C	15.2	19.5	30.2	35.5	
	D	17.7	19.1	28.0	32.0	
18 μ m/l	A	17.7	21.9	34.1	40.0	3.3 %
	B	- 16.3	- 19.9	- 30.7	- 33.4	
	C	16.5 (0.0%)	19.4	29.2	32.0	
	D	14.6	18.2	28.7	34.7	
36 μ m/l	A	15.5	-	30.4	37.2	4.6 %
	B	14.0 15.1	17.9 19.1	29.2 30.2	35.0 37.1	
	C	15.9 (7.1%)	20.1 (2.1%)	30.9	37.1	
	D	19.5	19.5	-	-	
72 μ m/l	A	10.9	15.2	25.4	28.5	20 %
	B	11.4 11.0	16.1 15.5	26.5 25.6	30.0 29.0	
	C	10.5 (32.3%)	14.9 (20.9%)	24.9 (12.7%)	29.1 (16.0%)	
	D	11.4	15.7	25.7	28.2	
144 μ m/l	A	4.9	8.7	15.6	18.5	52 %
	B	6.4 5.7	8.9 9.1	15.9 15.9	18.9 19.2	
	C	6.1 (65.1%)	9.0 (53.7%)	16.2 (46.0%)	19.1 (44.2%)	
	D	5.4	9.6	15.7	20.5	

Gráfica 24. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Picnoporus coccineus con tBuB15C5



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 25. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE $\tau B_u B_{15} C_5$ CONTRA *Palaemonetes coarctatus*

$$ED_{50} = 18 \times 2^0 = 144 \mu\text{m/l}$$

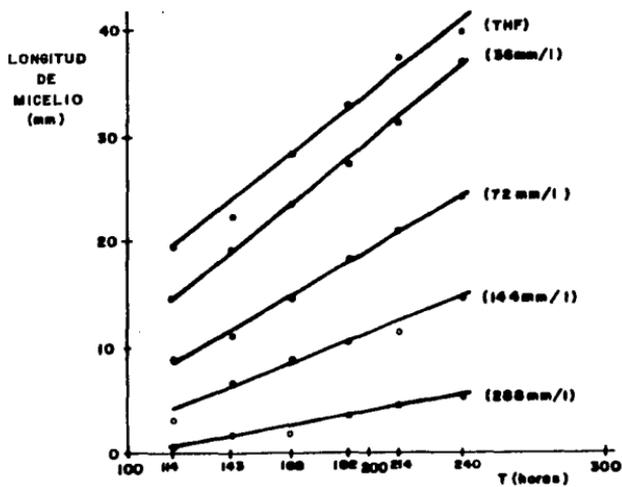
TABLA 18

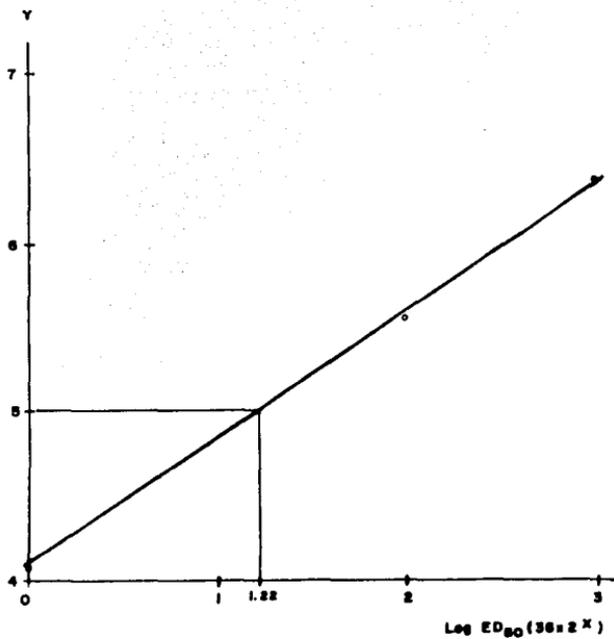
DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE tBuB18C6 CONTRA *Piscinopus coccineus*.

Conc	Longitud de Micelio						% de Inhibición	
	119 hrs	143 hrs	168 hrs	192 hrs	214 hrs	240 hrs		
BLANCO (THF)	A	19.0	22.5	27.1	33.0	37.0	40.0	$\frac{a - a_0}{a_0} \times 100$
	B	19.6 19.2	22.4 22.4	28.5 28.5	33.1 33.1	37.5 37.5	40.2 40.2	
	C	20.2	22.2	29.9	33.2	38.0	40.5	
	D	-	-	-	-	-	-	
36 μ m/l	A	15.0	19.9	25.5	28.4	32.7	37.4	17%
	B	15.5 14.9	20.5 19.5	26.0 23.9	29.5 27.7	31.9 31.09	37.0 37.09	
	C	14.7 (24.03%)	19.6 (12.8%)	22.2 (16.1%)	26.7 (16.3%)	29.5 (17.09%)	37.7 (7.8%)	
	D	14.4 9.2	18.0 11.9	21.9 15.5	26.2 19.0	30.2 20.9	36.2 24.5	
72 μ m/l	A	10.2	12.2	16.7	19.5	22.2	25.2	47%
	B	6.8 8.8	8.9 11.3	11.1 14.7	15.9 18.4	20.6 21.2	21.9 24.1	
	C	9.2 (55.3%)	12.2 (49.4%)	15.4 (48.5%)	19.1 (44.5%)	21.0 (43.5%)	24.9 (40.06%)	
	D	9.2 2.3	11.9 6.1	15.5 6.0	19.0 8.0	20.9 10.0	24.5 13.0	
144 μ m/l	A	3.6	6.2	8.4	10.0	11.5	14.7	71%
	B	5.4 3.2	7.7 6.7	9.6 8.99	11.9 10.3	13.0 11.5	16.6 14.8	
	C	1.2 (83.4%)	2.1 (70.0%)	3.4 (68.6%)	5.6 (88.9%)	6.5 (89.3%)	9.7 (83.2%)	
	D	2.3 0	6.1 -	6.0 -	8.0 -	10.0 -	13.0 -	
288 μ m/l	A	0	1.0	1.0	2.7	3.5	4.1	91%
	B	0.7 0.7	1.1 1.8	1.0 1.8	3.2 3.8	3.7 4.4	5.5 5.6	
	C	0.7 (96.4%)	1.8 (92.0%)	1.8 (93.6%)	3.8 (88.6%)	4.4 (88.2%)	5.6 (86.0%)	
	D	0	-	-	-	-	-	

* Punto descartado por medición equivocada.

Gráfica 26. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Penicillium coccineus con tBuB18C6



Gráfica 27. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE tBuB18C6 CONTRA *Planoporus coecineus*

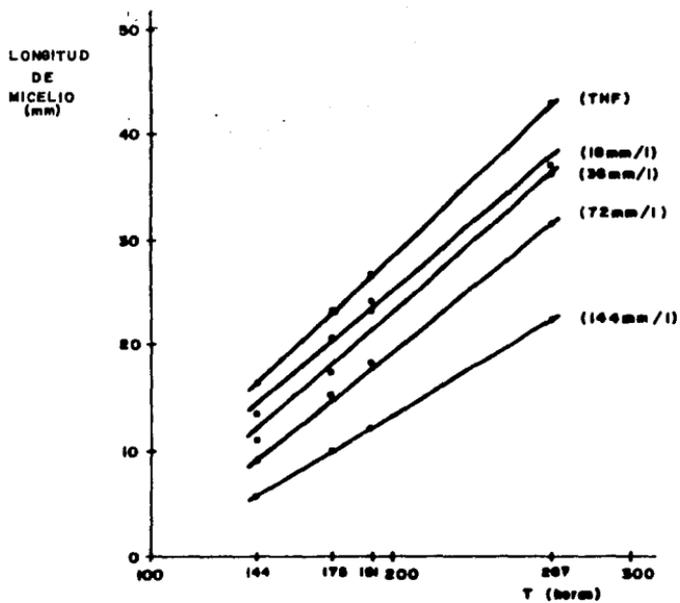
$$ED_{50} = 36 \times 2^{1.22} = 83 \mu\text{m/l}$$

TABLA 19

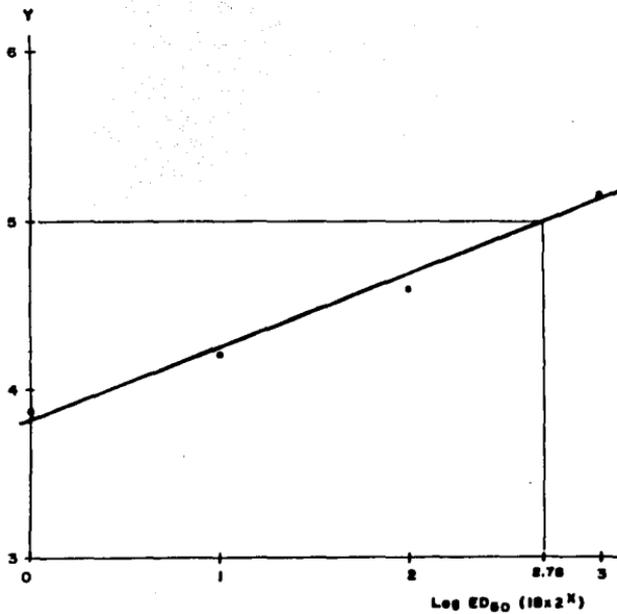
DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE DICH18C6 CONTRA *Picnoporus coccineus*.

Concentraciones	Longitud de Micelio				% de Inhibición	
	144 horas	175 horas	191 horas	267 horas		
BLANCO (THF)	A	15.7	22.7	26.2	43.0	$\frac{a_o - a}{a_o} \times 100$
	B	17.7 <u>16.4</u>	24.0 <u>23.5</u>	27.0 <u>26.8</u>	43.5 <u>43.1</u>	
	C	15.0	22.7	26.0	42.5	
	D	17.2	24.5	28.0	43.5	
18 μ m/l	A	13.2	20.7	23.7	37.5	13 %
	B	15.5 <u>13.7</u>	22.0 <u>20.8</u>	26.0 <u>24.1</u>	40.0 <u>31.1</u>	
	C	13.5 (17.1%)	21.2 (12.5%)	24.7 (10.0%)	37.0 (13.9%)	
	D	12.2	18.2	22.0	34.0	
36 μ m/l	A	12.0	19.5	22.2	38.7	22 %
	B	14.0 <u>11.0</u>	21.2 <u>17.6</u>	24.2 <u>23.4</u>	38.0 <u>36.4</u>	
	C	9.5 (33.1%)	15.5 (25.3%)	19.2 (12.6%)	34.5 (15.5%)	
	D	8.5	14.0	18.0	34.5	
72 μ m/l	A	9.7	17.0	20.2	36.0	34 %
	B	11.5 <u>9.1</u>	18.0 <u>15.5</u>	20.2 <u>18.1</u>	32.7 <u>31.8</u>	
	C	8.5 (44.9%)	15.0 (34.0%)	18.0 (32.4%)	33.7 (26.2%)	
	D	6.5	12.0	14.0	24.7	
144 μ m/l	A	5.7	8.2	10.5	22.0	56 %
	B	5.5 <u>5.7</u>	10.2 <u>10.1</u>	12.0 <u>12.1</u>	21.5 <u>22.5</u>	
	C	6.5 (65.4%)	10.5 (57.2%)	12.0 (55.0%)	22.0 (47.8%)	
	D	5.0	11.2	13.8	24.0	

Gráfica 28. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Pisporolus coccineus con DICH18C6



Gráfica 29. DETERMINACION DE LA DE_{50} DE dICH18C6 CONTRA *Pisicorotus coccineus*

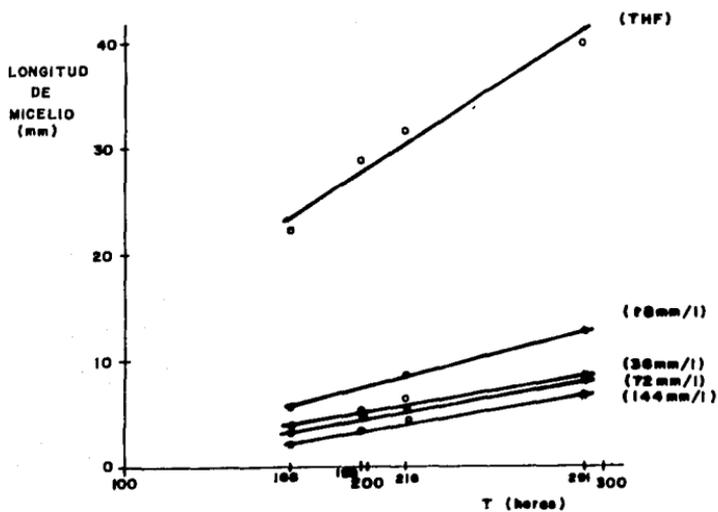


$$ED_{50} = 10 \times 2^{2.70} = 123.7 \text{ ppm/l}$$

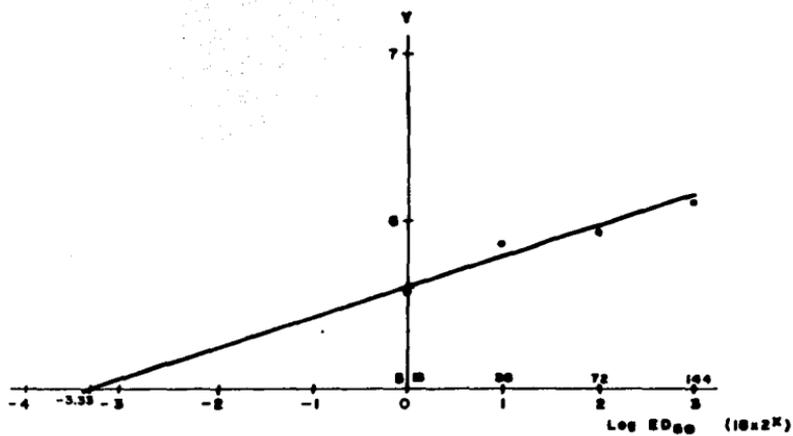
TABLA 20
 DETERMINACION DE LA DE₅₀ DE ditBudib18C6 CONTRA *Picnoporus coccineus*.

Concentraciones	Longitud de Micelio				% de Inhibición	
	168 horas	109 horas	216 horas	291 horas		
BLANCO (THF)	A	19.5	25.0	26.7	39.0	$\frac{a_o - a}{a_o} \times 100$
	B	19.5 $\overline{22.6}$	25.2 $\overline{29.5}$	28.2 $\overline{32.0}$	39.7 $\overline{40.2}$	
	C	26.0	35.2	36.5	42.0	
	D	25.5	32.5	36.5	40.0	
18 $\mu\text{m}/1$	A	7.2	9.5	10.7	14.7	72 %
	B	6.0 $\overline{5.9}$	7.5 $\overline{7.7}$	8.7 $\overline{8.8}$	13.2 $\overline{12.9}$	
	C	6.0 (73.7%)	8.0 (73.9%)	8.7 (72.5%)	12.5 (68.0%)	
	D	4.5	5.7	7.0	11.0	
36 $\mu\text{m}/1$	A	4.0	4.7	5.7	8.0	80 %
	B	4.0 $\overline{4.0}$	5.7 $\overline{5.5}$	6.5 $\overline{6.4}$	9.2 $\overline{8.9}$	
	C	3.5 (82.3%)	4.2 (81.4%)	5.2 (80.1%)	7.5 (77.9%)	
	D	4.5	7.2	8.0	10.7	
72 $\mu\text{m}/1$	A	2.7	4.5	5.9	7.2	82 %
	B	3.7 $\overline{3.3}$	4.7 $\overline{5.0}$	5.2 $\overline{5.7}$	8.0 $\overline{8.4}$	
	C	2.5 (85.4%)	3.7 (83.0%)	4.7 (82.1%)	8.2 (79.0%)	
	D	4.2	7.0	7.0	10.2	
144 $\mu\text{m}/1$	A	2.2	4.5	5.0	7.2	87 %
	B	3.0 $\overline{2.1}$	4.0 $\overline{3.7}$	4.6 $\overline{4.3}$	6.5 $\overline{6.7}$	
	C	1.0 (90.6%)	2.7 (87.3%)	3.2 (86.6%)	5.2 (83.2%)	
	D	2.2	3.7	4.2	8.0	

Gráfica 30. LONGITUD DE MICELIO CONTRA TIEMPO
Pícnoporus coccíneus con ditBudiB18C6



Gráfica 31. DETERMINACION DE LA ED_{50} DE ditBudíB18C6 CONTRA *Pisporus coccineus*



$$ED_{50} = 10 \times 2^{-3.33} = 1.79 \mu\text{m/l}$$

Una vez obtenido el porcentaje de Inhibición, la DE_{50} fue calculada graficando el Probito contra el logaritmo del fungicida; las rectas fueron ajustadas con calculadora, y la DE_{50} fue obtenida por la siguiente fórmula:

$$DE_{50} = c_0 \times 2^x$$

en donde:

DE_{50} es la Dosis Efectiva Media.

c_0 es la concentración más baja del éter de corona objeto del ensayo.

x es el Valor interpolado en la abcisa, cuando el probito es 5.

NOTA: Es importante aclarar que el ensayo cualitativo de *Tyromyces palustris* - no se realizó, debido a que la forma de crecimiento del micelio no permitió la observación clara de la inhibición.

TABLA 21
 RESULTADOS FINALES

Reactivo Hongo	tBuB15C5	tBuB18C6	diCH18C6	Kriptofix 22-DD	ditBudi B18C6
<i>Coriolus versicolor</i>	106 /mol/1	111 /mol/1	53 /mol/1	42 /mol/1	13 /mol/1
<i>Tyromyces palustris</i>	78 /mol/1	76 /mol/1	59 /mol/1	63 /mol/1	10 /mol/1
<i>Picnoporus coccineus</i>	144 /mol/1	84 /mol/1	124 /mol/1	-	2 /mol/1

7. DISCUSION Y CONCLUSIONES

Fue realizado el estudio o evaluación de la actividad fungicida de 11 derivados de los comunmente llamados "Eteres de Corona", contra tres cepas de hongos degradadores de la madera, *Coriolus versicolor*, *Picnoporus coccineus* y *Tyromyces palustris*. Como se habrá notado, el objetivo del estudio era la evaluación de 12 derivados de éteres de corona y se evaluaron únicamente 11, debido a que el diB18C6, no logró su disolución completa en ninguno de los solventes utilizados.

En el presente trabajo, se utilizó, como medio de cultivo, PDA, porque la papa tiene un contenido de carbohidratos de aproximadamente 18%, principalmente almidón y un poco de azúcar, y porque de los polisacáridos, el almidón, la principal reserva de las plantas verdes, es una buena fuente de carbono en la mayoría de los hongos, tanto que, en ocasiones se ha considerado al almidón, como una mejor fuente para el crecimiento de los hongos, que la glucosa. Pero también, es importante hacer notar, que la utilización de un compuesto lentamente hidrolizable, tal como el almidón, es frecuentemente acompañada por la producción y acumulación de pequeñas cantidades de subproductos tóxicos, tales como ácidos. La acumulación de tales subproductos en el medio inmediato de la hifa, puede eventualmente inhibir el crecimiento posterior. Este tipo de inhibición, en la práctica no es detectable a tiempos de incubación relativamente cortos. Así que, tomando en cuenta esto, y el hecho de que tanto los testigos como los casos experimentales estarían sujetos al mismo efecto, éste no constituiría una variable, y por lo tanto, podía ser despreciado.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar que el Eter de Corona que presentó una mayor actividad fungicida contra las tres cepas utilizadas, fue el diBudiB18C6, el cual presentó una DE_{50} menor de 10 ppm en los tres hongos.

Como podemos observar en la tabla No. 21, de Resultados Finales, las Do -

sis Efectivas Medias para los reactivos que presentaron una mejor actividad -- fungicida, no llega a las 50 ppm, lo cual es un parámetro importante y alentador para que se continúe el estudio de los Eteres de Corona, como preservadores de madera.

Según los resultados obtenidos, hay cierta relación entre la actividad fungicida y la estructura molecular del éter de corona, aunque no se debe precisamente a la longitud de la corona, sino más bien a la estructura del grupo alquilo que se tenga en sustitución. Bien vale la pena estudiar la relación de actividad y la estructura química del éter de corona, así como la realización de la prueba in vivo de la toxicidad de los mismos, porque pensamos que existe una gran posibilidad de desarrollar un nuevo tipo de protector de la ma dera.

Tal vez, la obtención o síntesis de éstos reactivos sea de un costo elevado, y ésto sea un parámetro que limite un poco su aplicación práctica, pero por ejemplo, un campo como la restauración de antigüedades de madera, ampliamente necesitado de protectores efectivos, es un campo de acción interesante para continuar la determinación de los parámetros restantes que nos indiquen si los Eteres de Corona pudieran llegar a ser el preservador ideal.

8. BIBLIOGRAFIA

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1967. Standard method for - accelerated laboratory tests of natural decay resistance of woods. ASTM Designation: D 2017-63. 1967 ASTM Books of Standards. Part - 16. Structural Sandwich Constructions, Wood, Adhesives. American -- Society for Testing and Materials. Philadelphia. págs. 682-689.
- ANANTHANARAYANAN, S., 1979. Timber deterioration and its prevention. -- Rev. Mycol. 43(2): 131-142.
- BRANCATO, F. P. & S. GOLDING, 1953. The diameter of the mold colony as - a reliable measure of growth. Mycologia 45 (6): 848-864p.
- BRAVEY, A. F., 1968. Determining the tolerance of soft-rot fungi to --- wood preservatives. A comparasion of test methods. Mat. u. Organ. 3 (3): 213-227.
- CAREY, J. K., 1975. Isolation and characterization of wood-inhabiting -- fungi. In: LOVELOCK, D. W. & R. J. GILBERT (Eds.), Microbial aspec ts of the deterioration of materials. Academic Press. London, 261 p.
- CARTWRIGHT, K. St. G. & W. P. K. FINDLAY, 1958. Decay of timber and its prevention. Her Majesty's Stationary Office. London, 332 p.
- CHRISTENSEN, J. J.; EATOUGH D. J. & IZATT, R.M, 1973. The synthesis + ion binding of synthetic multidentate macrocyclic compounds. Utah. Chemical Reviews. Vol 74, No. 3.
- DA COSTA, E. W. B.; K. HIRST & L. D. OSBORNE, 1972. Laboratory evalua- tions of wood preservatives: VIII. Protection of plywood against - decay fungi by incorporation of fungicides in the glue-line. Holz-- forsch. 26 (4): 131-138.
- DICKINSON, D. J., 1974. A new technique for screening fungicide for wood preservation. Int. Biodeth. Bull. 10(2): 49 51.
- FINDLAY, W. P. K., 1967. Timber pest and diseases. Pergamon Press. Ox-- ford, 280 p.
- , 1975. Timber: properties and uses. Crosby Lockwood Staples. London 224 p.
- GARCIA CARMONA, G., 1948. Resistencia relativa de algunas maderas tropi cales mexicanas a los hongos xilófagos. Tesis Profesional. Fac. de Química, U. N. A. M. México, 138 p.
- GOMEZ-NAVA, M. S.; R. ECHENIQUE-MANRIQUE y R. SALINAS-QUINARD, 1969. In- dices de laboratorio sobre resistencia de la madera a la pudrición- de 11 especies forestales mexicanas. Bol. Div. Inst. Nac. Invest. For. 31. México. 40 p.
- GUZMAN DEL PROO, S. A., 1977. Efectos del alquitrán del coyol (sheela - liebmanii Becc.) contra algunos hongos xilófagos. Tesis Profesio- nal. E. N. C.B., I.P.N. México, 50 p.

- HERRERA RODRIGUEZ, J. A.: M. S. GOMEZ-NAVA y A. HERRERA BAILON, 1976. Durabilidad natural de la madera de especies forestales mexicanas. --- Bol. Téc. Inst. Nac. Invest. For. 52. México. 32 p.
- , 1977. Preservación de maderas por métodos sencillos y de bajo costo. Ciencia Forestal 2(8): 25-49.
- HUNDSON, H. J., 1980. Fungal saprophytism. Arnold. London. 67 p.
- HUNT, G. M. y G. A. GARRAT, 1962. Preservación de la madera. Salvat. Barcelona, 486 p.
- IZATT, RM & CHRISTENSEN, J. J., 1978. Synthetic multidentate macrocyclic compounds. Academic Press. Provo, Utan.
- KATO N., 1980. J. ANTIBACT., ANTIFUNG, AGENTS. VOL 8, No. 12 532 p.
- , IKEDA; OKAHARA & SHIBASAKI, 1980. Antimicrobial Activity of n-alkyl - Monoaza Crown Ethers. J. Antibact. Antifung Agents. Vol. 8, No. 10, 1-6 p.
- KIRK, K. T., 1973. The chemistry and biochemistry of decay. In: NICHOLAS, D. D. (Ed.). Wood deterioration and its prevention by preservative treatments. Vol. I. Degradation and protection of wood. Syracuse - University Press. Syracuse, 380 p.
- KOLLMANN, F. P. & W. A. COTE Jr., 1968. Principles of wood science and technology. Vol. I. Solid wood. Springer-Verlag. Berlin, 592 p.
- LEVI, M. P., 1973. Control methods. In: NICHOLAS, D. D. (Ed.). Wood deterioration and its prevention by preservative treatments. Vol. I. Degradation and protection of wood. Syracuse University Press. Syracuse - University Press. Syracuse, 380 p.
- LOPEZ GUERRERO, M. T., 1979. Caracterización de algunos cultivos de hongos causantes de pudrición en la madera. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias, U. N. A. M. México, 76 p.
- PANSHIN, A. J. & DE ZEEUW, 1970. Textbook of wood technology. Vol. I. --- Structure, identification, uses, and properties of the commercial woods of the United States and Canada. McGraw-Hill. New York, 705 p.
- PEDERSEN, C. J., 1967. Cyclic polyethers and their complexes with metal salts. Journal of the American Chemical Society. 89:26. 7017-7035 p.
- PEREZ-MORALES, V.; L. M. PINZON-PICASEÑO Y R. ECHENIQUE-MANRIQUE, 1977. Ensayo de laboratorio sobre resistencia natural de la madera de especies tropicales mexicanas al ataque de hongos xilófagos. Bol. Soc. Mex. -- Mic. 11:99 107.
- PINZON PICASEÑO, L. M., 1972. Ensayo de preservadores para madera contra hongos que causan la pudrición. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, U. N. A. M. México, 74 p.
- PINSON-PICASEÑO, L. M. y R. ECHENIQUE-MANRIQUE, 1974. Ensayo de toxicidad de 4 preservadores para madera sobre algunos hongos xilófagos. An -- Inst. Biol. Univ. Nal. Autón., México 45, Ser. Botánica 1:57-74.

- y ---, 1976. Preservadores a base de cobre, cromo y arsénico, su fijación en la madera y su efecto sobre hongos xilófagos. Bol. Div. Inst. Nac. -- Invest. For. 39. México 16 p.
- RICHARDS, A. C., 1923. Methods of testing the relative toxicity of wood preservatives. Proc. Amer. Wood Pres. Ass. 19:127-135.
- RICHARDS, A. C., 1925. The comparative resistance of 18 species of wood destroying fungi to zinc chloride. Proc. Amer. Wood Pres. Ass. 21:18-22.
- ; R. ECHENIQUE-MANRIQUE y L. GALVEZ CRUZ, 1971. Observaciones acerca de -- la inducción de resistencia del ataque de hongos productores de pudriciones en maderas tratadas con niveles variables de radiaciones gamma. Rev. lat.-amer. Microbiol. 13:45-58.
- SCHNEFFER, T. C., 1973. Microbiological degradation and the causal organisms. In: NICHOLAS, D. D. (ED.) Wood deterioration and its prevention by preservative treatments. Vol. I. Degradation and protection of wood. Syracuse University Press. Syracuse, 380 p.
- SCHMITZ, H. & others, 1931. A suggested toximetric method for wood preservatives. Proc. Amer. Wood Pres. Ass. 27:81-86.
- SJOSTROM, E., 1981. Wood Chemistry Fundamentals & Applications. Academic -- Press. Espoo, Finland, 87 p.
- SMITH, D. R., 1971. A possible method for the rapid evaluation of wood preservatives, Holzforsch. 57:18-22.
- SUTTER, H. P., 1978. A new technique for screening fungicides for wood preservatives. I-t. Biodetn, Bull. 14(3); 95-99.
- & O. COLLETT, 1979. A laboratory test to determine potential uses of -- fungicides against *Serpula lacrymans* Gray. Int. J. Wood Pres. 1 (1):21-25.
- VELIZ AVILA, F. A., 1982. Caracterización de 22 cepas de hongos Basidiomycetos causantes de pudrición en la madera. Tesis Profesional. E.N.E.P., Iztacala, U.N.A.M. MEXICO, 109 p.
- WUNG-WAITSO; WAI-PING FUNG & MAN-YIN WONG TSO, 1981. Variability of Crown --- Ether Toxicity. J. Of. Inorganic Biochemistry, Hong Kong, 237-244 p.